

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2004 年 2 月 19 日 (19.02.2004)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2004/014414 A1

(51) 国際特許分類: A61K 38/17, 31/7088, 39/395, 45/00, 48/00, A61P 3/04, 5/00, 5/38, 7/00, 9/00, 13/12, 15/00, 21/00, 21/04, 25/00, 25/02, 25/08, 25/14, 25/18, 25/20, 25/24, 27/02, 37/00, C12N 5/06, 5/10, A01K 67/027, C12Q 1/02, 1/68, C07K 14/47

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/010078

(22) 国際出願日: 2003 年 8 月 7 日 (07.08.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2002-232684 2002 年 8 月 9 日 (09.08.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒541-0045 大阪府 大阪市中央区 道修町四丁目 1 番 1 号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 春日 久男 (KASUGA, Hisao) [JP/JP]; 〒560-0051 大阪府 豊中市 永楽荘 1 丁目 9-5-2 1 5 Osaka (JP). 日沼 州司 (HINUMA, Shuji) [JP/JP]; 〒305-0821 茨城県 つくば市 春日 1 丁目 7-9-1 4 0 2 Ibaraki (JP). 宮下 英昭 (MIYASHITA, Hideaki) [JP/JP]; 〒583-0865 大阪府 羽曳野市 羽曳が丘西 1 丁目 5-3 6 Osaka (JP). 松岡 邦

夫 (MATSUOKA, Kunio) [JP/JP]; 〒564-0004 大阪府 吹田市 原町 1 丁目 1 8-6 Osaka (JP).

(74) 代理人: 高橋 秀一, 外 (TAKAHASHI, Shuichi et al.); 〒532-0024 大阪府 大阪市淀川区 十三本町 2 丁目 1 7 番 8 5 号 武田薬品工業株式会社大阪工場内 Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL USES OF RFRP AND OT7T022

(54) 発明の名称: RFRP および OT7T022 の新規用途

(57) Abstract: RFRP, OT7T022, DNAs encoding the same and an OT7T022 agonist are useful as preventives, remedies and improving agents for myopathy, adrenal dysfunction, twitching, aggressive behaviors, gait abnormality, body temperature rise, leukopenia, thrombopenia, increase in voluntary behaviors, muscular depression, etc. A nonhuman animal with the insufficient expression of an OT7T022 gene is useful in screening a preventive, a remedy or an improving drug for the above diseases.

(57) 要約: RFRP および OT7T022 またはそれらをコードする DNA や OT7T022 アゴニストは筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下などの予防・治療・改善薬として有用であり、OT7T022 遺伝子発現不全非ヒト動物は、上記疾患の予防・治療・改善薬のスクリーニングに有用である。



WO 2004/014414 A1

## 明 細 書

## RFRPおよびOT7T022の新規用途

## 5 技術分野

本発明は、RFRPおよびRFRPのレセプター蛋白質であるOT7T022の新規用途に関する。

さらに、本発明は、OT7T022遺伝子が不活性化された非ヒト哺乳動物の胚幹細胞、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、それらを用  
10 いるスクリーニング方法およびそのスクリーニングによって得られうる予防・治療・改善薬などに関する。

## 背景技術

新規な受容体OT7T022とそれに結合するC末端がLPL RF  
15 amide様、LPL RS amide様、LPQ RF amide様またはLPL RL amide様のペプチド(RFRP-1、RFRP-2、RFRP-3)が報告されている(WO00/29441号)。

OT7T022とRFRP-1、RFRP-2、RFRP-3がプロラクチン分泌に関与していることが報告されている(WO01/66134号)。

20 RFRP-1に対応するNP SFやRFRP-3に対応するNP VFがOT7T022に結合し、抗オピオイドに関与していることが記載されている(The Journal of Biological Chemistry, vol.276, No.40, p36961-36969, 2001)。

しかし、RFRPおよびOT7T022の生体内における機能および作用  
25 機序については、さらに解明すべき点が数多く残されている。

OT7T022遺伝子が不活性化された非ヒト動物ES細胞の作製に成功すれば、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物を作出することができる。そして、得られるOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、OT7T0

22により誘導され得る種々の生物活性を欠失するため、OT7T022の生物活性の不活性化を原因とする疾病のモデルとなり、これらの疾病の原因究明および治療法の検討が可能となる。

本発明は、RFRPおよびOT7T022のさらなる機能を解明し、新たな医薬を提供することを課題とする。

#### 発明の開示

本発明者らは、上記の課題に鑑み、鋭意研究を重ねた結果、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物を作出することに成功し、該動物の発現型として、予想外にも体温上昇、腎臓絶対重量の増加、胸腺絶対重量の増加、白血球数の減少、血小板数の減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、攻撃行動の誘発、後退歩行、筋力の低下などが起こることを見出した。本発明者らは、これらの知見に基づいて、さらに検討を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、

〔1〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔2〕ポリペプチドが配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドである上記〔1〕記載の剤、

〔3〕部分ペプチドが、

（i）配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第88番目（Leu）～第92番目（Phe）のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または3で表わされるアミノ酸配列

の第1番目 (Met) ～第87番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ヒトRFRP-1)、

- (ii) 配列番号: 1または配列番号: 3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Ser) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号: 1または3で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第100番目 (Arg) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ヒトRFRP-2)、

- (iii) 配列番号: 1または配列番号: 3で表わされるアミノ酸配列の第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号: 1または3で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第126番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ヒトRFRP-3)、

- (iv) 配列番号: 5で表わされるアミノ酸配列の第88番目 (Leu) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号: 5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第87番目 (Lys) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-1)、

- (v) 配列番号: 5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Leu) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号: 5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第100番目 (Arg) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-2)、

- (vi) 配列番号: 5で表わされるアミノ酸配列の第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号: 5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第126番目

(Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-3) 、

- (vii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第90番目 (Leu) ～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第89番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (マウスRFRP-1) 、

- (viii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第120番目 (Ser) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～120個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (マウスRFRP-3) 、

- (ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第90番目 (Leu) ～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第89番目 (Val) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ラットRFRP-1) 、

- (x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第120番目 (Ser) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～120個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ラットRFRP-3) 、

- (xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

(xiv) 上記 (xi) ~ (xiii) の付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである上記 [1] 記載の剤、

5     〔4〕部分ペプチドが、

      (i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目 (Ser) ~ 第92番目 (Phe)、第70番目 (Met) ~ 第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ~ 第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ~ 第92番目 (Phe) または第84番目 (Ser) ~ 第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒトRFRP-1)、

10     (ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ~ 第112番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒトRFRP-2)、

      (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Asn) ~ 第131番目 (Phe)、第104番目 (Asn) ~ 第131番目 (Phe)、第115番目 (Asn) ~ 第131番目 (Phe)、第124番目 (Val) ~ 第131番目 (Phe)、第125番目 (Pro) ~ 第131番目 (Phe)、第126番目 (Asn) ~ 第131番目 (Phe) または第127番目 (Leu) ~ 第131番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒトRFRP-3)、

20     (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ~ 第92番目 (Phe)、第70番目 (Lys) ~ 第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ~ 第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ~ 第92番目 (Phe) または第84番目 (Ser) ~ 第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-1)、

25     (v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ~ 第112番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-2)、

      (vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ~ 第131番目 (Phe)、第104番目 (Ala) ~ 第131番目 (Phe)、第115番

目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 4 番目 (Val) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、  
第 1 2 5 番目 (Pro) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 6 番目 (Asn) ～第 1 3  
1 番目 (Phe) または第 1 2 7 番目 (Leu) ～第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸  
配列からなるペプチド (ウシ RFRP-3)、

- 5 (vii) 配列番号: 9 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9  
4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met)  
～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4  
番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス  
RFRP-1)、

- 10 (viii) 配列番号: 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第  
1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0  
番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番  
目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス RFRP-3)、

- (ix) 配列番号: 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser)  
15 ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Asp) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目  
(Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) また  
は第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド  
(ラット RFRP-1)、

- (x) 配列番号: 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目  
20 (Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、  
第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第  
1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラット RFRP-3)、

(xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ～ 5 個のアミノ  
酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド (欠失型)、

- 25 (xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸  
が付加したアミノ酸配列からなるペプチド (付加型)、

(xiii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ  
酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド (挿入型)、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド (置換型)、または

(xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである上記 [1] 記載の剤、

- 5     [5] 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 10    [6] DNA が配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22 で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする DNA である上記 [5] 記載の剤、

      [7] DNA が、

- (i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 56  
15    番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト RFRP-1)、

- (ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 10  
20    1 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト RFRP-2)、

- (iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 10  
1 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val)  
25    ~ 第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト RFRP-3)、

      (iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 92



番目 (Phe)、第70番目 (Lys) ~第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ~第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ~第92番目 (Phe) または第84番目 (Ser) ~第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-1)、

- 5 (v) 配列番号: 5 で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ~第112番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-2)、

- (vi) 配列番号: 5 で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ~第131番目 (Phe)、第104番目 (Ala) ~第131番目 (Phe)、第115番目 (Asn) ~第131番目 (Phe)、第124番目 (Val) ~第131番目 (Phe)、  
10 第125番目 (Pro) ~第131番目 (Phe)、第126番目 (Asn) ~第131番目 (Phe) または第127番目 (Leu) ~第131番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-3)、

- (vii) 配列番号: 9 で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ~第94番目 (Phe)、第72番目 (Val) ~第94番目 (Phe)、第75番目 (Met) ~第94番目 (Phe)、第83番目 (Val) ~第94番目 (Phe) または第84番目 (Pro) ~第94番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウスRFRP-1)、  
15

- (viii) 配列番号: 9 で表わされるアミノ酸配列の第118番目 (Phe) ~第125番目 (Phe)、第119番目 (Pro) ~第125番目 (Phe)、第120番目 (Ser) ~第125番目 (Phe) または第121番目 (Leu) ~第125番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウスRFRP-3)、  
20

- (ix) 配列番号: 7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ~第94番目 (Phe)、第72番目 (Asp) ~第94番目 (Phe)、第75番目 (Met) ~第94番目 (Phe)、第83番目 (Val) ~第94番目 (Phe) または第84番目 (Pro) ~第94番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラットRFRP-1)、  
25

- (x) 配列番号: 7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第118番目 (Phe) ~第125番目 (Phe)、第119番目 (Pro) ~第125番目 (Phe)、

- 第120番目 (Ser) ～第125番目 (Phe) または第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラットRFRP-3)、
- (xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の1～5個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド (欠失型)、
- 5 (xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド (付加型)、
- (xiii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド (挿入型)、
- (xiv) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の1～5個のアミノ
- 10 酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド (置換型)、または
- (xv) 上記 (xi) ～ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチド、
- をコードするDNAである上記〔5〕記載の剤、
- 〔8〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
- 15 アミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の変化または筋力変化の診断剤、
- 〔9〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
- 20 アミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の減少の予防・治療・改善剤、
- 〔10〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
- 25 アミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の変化、筋力変化の診断

剤、

〔11〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA  
5 含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔12〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を  
10 増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔13〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を  
15 減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔14〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペ  
20 プチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔15〕OT7T022が配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質である上記〔14〕記載の剤、

25 〔16〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動

量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔17〕DNAが配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAである上記〔16〕記載の剤、

- 5   〔18〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化の診断剤、
- 10   〔19〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、
- 15   〔20〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化の診断剤、
- 20   〔21〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、
- 25   〔22〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障

害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 5     〔23〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

- 10     〔24〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 15     〔25〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

- 20     〔26〕哺乳動物に対して、

（i）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、

- 25     （ii）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、

（iii）配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増

加させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、

- 5 (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプ

- 10 チドまたはその塩に対するアゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与すること

- 15 を特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善方法、

〔27〕哺乳動物に対して、

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミ

- 20 ドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

- 25 (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプ

チドまたはその塩に対する抗体、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有する

5 アンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一  
10 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善方法、

15 [28] 筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤を製造するための

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミ  
20 ドもしくはそのエステルまたはその塩、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の  
25 アミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプ

チドまたはその塩、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

- 5 (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または

- (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分  
10 ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の使用、

[29] 筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤を製造するための

- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の  
15 アミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

- 20 (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

- (iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペ  
25 チドまたはその塩に対する抗体、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有する



アンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

- 5 (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の使用、

[30] OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞、

[31] 薬剤耐性である上記[30]記載の胚幹細胞、

- 10 [32] 薬剤がネオマイシンである上記[29]記載の胚幹細胞、

[33] レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された上記[30]記載の胚幹細胞、

[34] レポーター遺伝子がlacZ遺伝子である上記[33]記載の胚幹細胞、

- 15 [35] 哺乳動物がマウスである上記[30]記載の胚幹細胞、

[36] OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：25、配列番号：26、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である上記[30]記載の胚幹細胞、

[37] OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、

- 20 [38] レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された上記[37]記載の動物、

[39] 非ヒト哺乳動物がマウスである上記[37]記載の動物、

[40] OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である上記[37]記載の動物、

- 25 [41] 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、胸腺退縮遅延がみられる上記[37]記載の動物、

[42] 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、後退歩行がみられる上記[37]

記載の動物、

〔43〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、侵害刺激（例、熱侵害刺激）に対して鈍麻がみられる上記〔37〕記載の動物、

〔44〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、攻撃的行動が多い上記〔37〕記載の動物、

〔45〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる上記〔37〕記載の動物、

〔46〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる上記〔37〕記載の動物、

〔47〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、筋力が低下している上記〔37〕記載の動物、

〔48〕上記〔37〕記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、

〔49〕上記〔37〕記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする上記〔48〕記載のスクリーニング方法、

〔50〕上記〔48〕記載のスクリーニング方法により得られる、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬、

〔51〕上記〔48〕記載のスクリーニング方法により得られる予防・治療・

改善薬を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、  
5 夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔５２〕上記〔３７〕記載の動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、

〔５３〕上記〔３７〕記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、

10 〔５４〕上記〔５２〕記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病体モデル動物、

〔５５〕上記〔５２〕～〔５４〕のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、  
15 摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、

〔５６〕上記〔５２〕～〔５４〕のいずれかに記載の動物もしくはその組織  
20 またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加  
25 または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、

〔５７〕上記〔５５〕または〔５６〕記載のスクリーニング方法により得られる、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、

不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬、

- 5      〔５８〕上記〔５５〕または〔５６〕記載のスクリーニング方法により得られる予防・治療・改善薬を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・
- 10   改善剤、

〔５９〕上記〔３８〕記載の動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とするOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、

- 15   〔６０〕上記〔５９〕記載のスクリーニング方法で得られうるOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩、

- 〔６１〕上記〔５９〕記載のスクリーニング方法で得られうるOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、
- 20   免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

- 〔６２〕上記〔５９〕記載のスクリーニング方法で得られうるOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤またはモルヒネ依存性
- 25

回避剤、

〔63〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一  
のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのア  
ミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11  
5 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有  
するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を用  
いることを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、  
体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動  
量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発  
10 行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の減少の予防・治療・改善薬のスク  
リーニング方法、および

〔64〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一  
のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのア  
ミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11  
15 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有  
するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有  
してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、  
白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、  
筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、  
20 夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング用キットを  
提供する。

#### 図面の簡単な説明

図1はOT7T022ターゲティングベクターの概略図を示す。

25

発明を実施するための最良の形態

本発明で用いられるRFRPは、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列  
と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド（以下、

- RFRPと称する場合がある)であり、ヒトや温血動物(例えば、モルモット、ラット、マウス、ニワトリ、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど)の細胞(例えば、網膜細胞、肝細胞、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓β細胞、骨髄細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞(例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球)、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくは癌細胞など)もしくはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、例えば、脳、脳の各部位(例、網膜、嗅球、扁桃核、大脳基底球、海馬、視床、視床下部、大脳皮質、延髄、小脳)、脊髄、下垂体、胃、膵臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管(例、大腸、小腸)、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、前立腺、睾丸、卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など、または血球系の細胞もしくはその培養細胞(例えば、MEL, M1, CTLL-2, HT-2, WEHI-3, HL-60, JOSK-1, K562, ML-1, MOLT-3, MOLT-4, MOLT-10, CCRF-CEM, TALL-1, Jurkat, CCRT-HSB-2, KE-37, SKW-3, HUT-78, HUT-102, H9, U937, THP-1, HEL, JK-1, CMK, KO-812, MEG-01など)に由来するポリペプチドであってもよく、合成ポリペプチドであってもよい。

- 配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などがあげられる。

アミノ酸配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment

Search Tool) を用い、以下の条件 (期待値 = 10 ; ギャップを許す ; マトリクス = BLOSUM62 ; フィルタリング = OFF) にて計算することができる。

例えば、配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列の第 22 ~ 180 番目のアミノ酸配列を有するアミノ酸配列や、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 : 9 または配列番号 : 22 で表されるアミノ酸配列などがあげられる。

本発明に用いられる RFRP は、具体的には、前記の配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチドまたは配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列 (例えば、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 : 9 または配列番号 : 22 で表されるアミノ酸配列など) を有し、配列番号 : 1 で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチドと実質的に同質のプロラクチン分泌促進活性などを有するポリペプチドである。

実質的に同質とは、プロラクチン分泌促進活性などが性質的に (例、生理化学的に、または薬理的に) 同質であることを示す。従って、プロラクチン分泌促進活性が同等 (例、約 0.1 ~ 100 倍、好ましくは約 0.5 ~ 10 倍、より好ましくは 0.5 ~ 2 倍) であることが好ましいが、これらの活性の程度、ポリペプチドの分子量などの量的要素は異なってもよい。

プロラクチン分泌促進活性の測定は、自体公知の方法に準じて行なうことができるが、例えば、WO 01/66134 号の実施例 1 に従って測定することができる。

また、RFRP としては、例えば、①配列番号 : 1、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 : 9 または配列番号 : 22 で表わされるアミノ酸配列中の 1 ~ 20 個 (好ましくは、1 ~ 15 個、さらに好ましくは、1 ~ 5 個、より好ましくは、1 ~ 3 個) のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号 : 1、配列番号 : 3、配列番号 : 5、配列番号 : 7、配列番号 :

- 9 または配列番号：22 で表わされるアミノ酸配列に1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22 で表わされる
- 5 アミノ酸配列に1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列、④配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22 で表わされるアミノ酸配列中の1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1
- 10 ～3個）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または⑤それら欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列を有するポリペプチドも含まれる。

上記のようにアミノ酸配列が欠失、付加、挿入または置換されている場合、その欠失、付加、挿入または置換の位置は特に限定されない。

- 15 本明細書におけるポリペプチドは、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRPをはじめとするRFRPは、C末端がカルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）、カルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）、アミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）の何れであってもよい。
- 20 ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピルもしくはn-ブチルなどの $\text{C}_{1-6}$ アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの $\text{C}_{3-8}$ シクロアルキル基、例えば、フェニル、 $\alpha$ -ナフチルなどの $\text{C}_{6-12}$ アリール基、例えば、ペンジル、フェネチルなどのフェニル- $\text{C}_{1-2}$ アルキル基もしくは $\alpha$ -ナフチルメチルなどの $\alpha$ -
- 25 -ナフチル- $\text{C}_{1-2}$ アルキル基などの $\text{C}_{7-14}$ アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

RFRPがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているもの



も本発明でいうRFRPの範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、RFRPには、N末端のアミノ酸残基（例、メチオニン残基）のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチル基などのC<sub>1-6</sub>アルカノイルなどのC<sub>1-6</sub>アシル基など）で保護されているもの、生体内で切断されて生成するN末端のグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば-OH、-SH、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など）が適当な保護基（例えば、ホルミル基、アセチル基などのC<sub>1-6</sub>アルカノイル基などのC<sub>1-6</sub>アシル基など）で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖蛋白質などの複合蛋白質なども含まれる。以下、これらのポリペプチドを含めてRFRPと略称することもある。

本発明で用いられるRFRPの具体例としては、例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRP、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRP、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシRFRP、配列番号：7で表わされるアミノ酸配列からなるラットRFRP、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列からなるマウスRFRP、配列番号：22で表わされるアミノ酸配列からなるラットRFRPなどが用いられ、例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRP、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRP、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシRFRPが好ましく用いられる。

RFRPの部分ペプチド（以下、RFRP部分ペプチドと称する場合がある）としては、前記したRFRPの部分ペプチドであって、後述するOT7T022（配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質またはその塩）に結合する能力を有するものであれば、いかなるものでもよい。

また、RFRP部分ペプチドは、そのアミノ酸配列中の1～5個（好まし

くは、1～3個のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1～5個（好ましくは、1～3個）のアミノ酸が付加し、または、そのアミノ酸配列に1～5個（好ましくは、1～3個のアミノ酸が挿入され、または、そのアミノ酸配列中の1～5個（好ましくは、1～3個のアミノ酸が他のアミノ酸  
5 で置換されたアミノ酸配列からなるものであってもよく、または、それら欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるものであってもよい。

また、RFRP部分ペプチドはC末端がカルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）、カルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）、アミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）（Rは上記と同意義を示す）のいずれであってもよい。なかでも、  
10 C末端がアミド（ $-\text{CONH}_2$ ）であるものが好ましい。

RFRP部分ペプチドがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明でいうRFRP部分ペプチドに含まれる。この場合の  
15 エステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、RFRP部分ペプチドには、前記したRFRPと同様に、N末端のアミノ酸残基（例、メチオニン残基）のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護さ  
20 れているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。以下、これらの部分ペプチドも含めてRFRP部分ペプチドと略称することもある。

RFRP部分ペプチドとして好ましくは、RFamide、RSamideまたはRLamide構造を有するペプチド、より好ましくは、RFamideまたはRSamide  
25 構造を有するペプチド、特に好ましくは、RFamideを有するペプチドが挙げられる。

RFamide構造とは、ペプチドのC末端がArginine（アルギニン）-Phenylalanine（フェニルアラニン）- $\text{NH}_2$ 構造になっていることをいい、R

S amide構造とは、ペプチドのC末端がArginine (アルギニン) -Serine (セリン) -NH<sub>2</sub>構造になっていることをいい、R L amide構造とは、ペプチドのC末端がArginine (アルギニン) -Leucine (ロイシン) -NH<sub>2</sub>構造になっていることを意味する。

5 R F R P部分ペプチドの中でも、例えば、

(i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第88番目 (Leu) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第87番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒトR F R P-1、

10 (ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Ser) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第100番目 (Arg) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒトR F R P-2、

20 (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第126番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒトR F R P-3、

25 (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第88番目 (Leu) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第87番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるウシR F R P-1、

- (v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Leu) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第100番目 (Arg) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるウシRFRP-2、
- 5
- (vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第126番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるウシRFRP-3、
- 10
- (vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第90番目 (Leu) ～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第89番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるマウスRFRP-1、
- 15
- (viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第120番目 (Ser) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～120個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるマウスRFRP-3、
- 20
- (ix) 配列番号：7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第90番目 (Leu) ～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ～第89番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるラットRFRP-1、
- 25
- (x) 配列番号：7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：7 または22 で表わされるアミノ酸配列の第1番

目 (Met) ～第 120 番目 (Ser) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ～ 120 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるラット RFRP-3、

(xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸  
5 が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸  
が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ～ 5 個のアミ  
ノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

10 (xiv) 上記 (xi) ～ (xiii) の付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配  
列からなるペプチドなどが用いられる。

これらの RFRP 部分ペプチドの中でも、

(i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 56  
番目 (Ser) ～第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Met) ～第 92 番目 (Phe)、  
15 第 73 番目 (Met) ～第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ～第 92 番目 (Phe)  
または第 84 番目 (Ser) ～第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト  
RFRP-1、

(ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 10  
1 番目 (Ser) ～第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP  
20 -2、

(iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 10  
1 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Asn) ～第 131 番目  
(Phe)、第 115 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val)  
～第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ～第 131 番目 (Phe)、第 1  
25 26 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ～第 13  
1 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-3、

(iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ～第 92  
番目 (Phe)、第 70 番目 (Lys) ～第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met)

- ～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ～第92番目 (Phe) または第84番目 (Ser) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるウシRFRP-1、
- (v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるウシRFRP-2、
- 5 (vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第131番目 (Phe)、第104番目 (Ala) ～第131番目 (Phe)、第115番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第124番目 (Val) ～第131番目 (Phe)、第125番目 (Pro) ～第131番目 (Phe)、第126番目 (Asn) ～第131番目 (Phe) または第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸
- 10 配列からなるウシRFRP-3、
- (vii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ～第94番目 (Phe)、第72番目 (Val) ～第94番目 (Phe)、第75番目 (Met) ～第94番目 (Phe)、第83番目 (Val) ～第94番目 (Phe) または第84番目 (Pro) ～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるマウスRFRP-
- 15 1、
- (viii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第118番目 (Phe) ～第125番目 (Phe)、第119番目 (Pro) ～第125番目 (Phe)、第120番目 (Ser) ～第125番目 (Phe) または第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるマウスRFRP-3、
- 20 (ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ～第94番目 (Phe)、第72番目 (Asp) ～第94番目 (Phe)、第75番目 (Met) ～第94番目 (Phe)、第83番目 (Val) ～第94番目 (Phe) または第84番目 (Pro) ～第94番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるラットRFRP-1、
- 25 (x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第118番目 (Phe) ～第125番目 (Phe)、第119番目 (Pro) ～第125番目 (Phe)、第120番目 (Ser) ～第125番目 (Phe) または第121番目 (Leu) ～第125番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるラットRFRP-3、

(xi) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなる欠失型ペプチド、

(xii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなる付加型ペプチド、

5 (xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなる挿入型ペプチド、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなる置換型ペプチド、または

(xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドなどが好ましく用いられる。

特にこれらのペプチドのアミド体（好ましくは、これらペプチドの C 末端のカルボキシル基 ( $-COOH$ ) がアミド化された ( $-CONH_2$ ) ペプチド）が好ましい。

具体的には、配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された ( $-CONH_2$ ) ペプチド（配列番号：13）、配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された ( $-CONH_2$ ) ペプチド（配列番号：15）および配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された ( $-CONH_2$ ) ペプチド（配列番号：14）などがあげられる。

RFRP または RFRP 部分ペプチドの塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸、有機酸）や塩基（例、アルカリ金属塩）などとの塩が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタ

ンスルホン酸、ペンゼンスルホン酸)との塩などが用いられる。

RFRPもしくはその塩またはRFRP部分ペプチドもしくはその塩は、WO 00/29441号、WO 01/66134号などに記載の方法に従って製造することができる。

- 5 RFRPをコードするDNAとしては、前述したRFRPをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。
- 10 ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりtotal RNAまたはmRNA画分を調製したものをを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (以下、RT-PCR法と略称する)によって増幅することもできる。
- 15 RFRPをコードするDNAとしては、例えば、配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基
- 20 配列を有し、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるRFRPと実質的に同質の活性を有するポリペプチドをコードするDNAなどであれば何れのもでもよい。

- 配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、それぞれ配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以
- 25



上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

塩基配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) を用い、以下の条件(期待値=10; ギャップを許す; フィルタリング=ON; マッチスコア=1; ミスマッチスコア=-3)にて計算することができる。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリンジェントな条件に従って行なうことができる。

ハイストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約19~40 mM、好ましくは約19~20 mMで、温度が約50~70℃、好ましくは約60~65℃の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約19 mMで温度が約65℃の場合が最も好ましい。

より具体的には、配列番号: 1 で表わされるアミノ酸配列からなるヒト RFRP をコードする DNA としては、配列番号: 2 で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。また、配列番号: 3 で表わされるアミノ酸配列からなるヒト RFRP をコードする DNA としては、配列番号: 4 で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。配列番号: 5 で表わされるアミノ酸配列からなるウシ RFRP をコードする DNA としては、配列番号: 6 で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。配列番号: 7 で表わされるアミノ酸配列からなるラット RFRP をコードする DNA としては、配列番号: 8 で表わされる塩基配列からなる DNA などが用いられる。配列番号: 9 で表わされるアミノ酸配列からなるマウス RFRP をコー

ドするDNAとしては、配列番号：10で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：22で表わされるアミノ酸配列からなるラットRFRPをコードするDNAとしては、配列番号：23で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。

5        RFRP部分ペプチドをコードするDNAとしては、前述したRFRP部分ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。

10       RFRP部分ペプチドをコードするDNAとしては、例えば、配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列を含有するDNAの部分塩基配列を有するDNA、または配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイスト  
15       リンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるRFRPと実質的に同質の活性を有するポリペプチドをコードするDNAの部分塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

20       配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAは、前記と同意義を示す。

塩基配列の相同性は、前記した相同性計算アルゴリズムNCBI BLASTを用い、同様の条件にて計算することができる。

25       ハイブリダイゼーションの方法およびハイストリンジェントな条件は前記と同様のものが用いられる。

また、RFRP部分ペプチドをコードするDNAとしてより具体的には、前記した具体的なRFRP部分ペプチドをコードするDNAなどが用いられ

る。例えば、

- (i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目 (Ser) ～第92番目 (Phe)、第70番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ～第92番目 (Phe) または第84番目 (Ser) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-1 をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第166番目～第276番目、第208番目～第276番目、第217番目～第276番目、第241番目～第276番目または第250番目～第276番目の塩基配列からなるDNA、
- 10 (ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-2 をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第301番目～第336番目の塩基配列からなるDNA、
- 15 (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第104番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第115番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第124番目 (Val) ～第131番目 (Phe)、第125番目 (Pro) ～第131番目 (Phe)、第126番目 (Asn) ～第131番目 (Phe) または第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト RFRP-3 をコードするDNA
- 20 としては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第301番目～第393番目、第310番目～第393番目、第343番目～第393番目、第370番目～第393番目、第373番目～第393番目、第376番目～第393番目または第379番目～第393番目の塩
- 25 基配列からなるDNA、
- (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ～第92番目 (Phe)、第70番目 (Lys) ～第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ～第92番目 (Phe) または第84

- 番目 (Ser) ～第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるウシ RFRP-1 をコードする DNA としては、配列番号：6 で表わされる塩基配列の第 172 番目～第 276 番目、第 208 番目～第 276 番目、第 217 番目～第 276 番目、第 241 番目～第 276 番目または第 250 番目～第 276 番目の塩基配列からなる DNA、
- 5 (v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ～第 112 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるウシ RFRP-2 をコードする DNA としては、配列番号：6 で表わされる塩基配列の第 301 番目～第 336 番目の塩基配列からなる DNA、
- 10 (vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ～第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Ala) ～第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ～第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ～第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ～第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるウシ RFRP-3 をコードする DNA としては、配列番号：6
- 15 で表わされる塩基配列の第 301 番目～第 393 番目、第 310 番目～第 393 番目、第 343 番目～第 393 番目、第 370 番目～第 393 番目、第 373 番目～第 393 番目、第 376 番目～第 393 番目または第 379 番目～第 393 番目の塩基配列からなる DNA、
- 20 (vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ～第 94 番目 (Phe)、第 72 番目 (Val) ～第 94 番目 (Phe)、第 75 番目 (Met) ～第 94 番目 (Phe)、第 83 番目 (Val) ～第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ～第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるマウス RFRP-1 をコードする DNA としては、配列番号：10 で表わされる塩基配列の第
- 25 172 番目～第 282 番目、第 214 番目～第 282 番目、第 223 番目～第 282 番目、第 247 番目～第 282 番目または第 250 番目～第 282 番目の塩基配列からなる DNA、
- (viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ～第

1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0  
番目 (Ser) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ~ 第 1 2 5 番  
目 (Phe) のアミノ酸配列からなるマウス RFRP-3 をコードする DNA と  
しては、配列番号: 10 で表わされる塩基配列の第 3 5 2 番目 ~ 第 3 7 5 番  
5 目、第 3 5 6 番目 ~ 第 3 7 5 番目、第 3 5 8 番目 ~ 第 3 7 5 番目または第 3  
6 1 番目 ~ 第 3 7 5 番目の塩基配列からなる DNA、

(ix) 配列番号: 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser)  
~ 第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Asp) ~ 第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目  
(Met) ~ 第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ~ 第 9 4 番目 (Phe) また  
10 は第 8 4 番目 (Pro) ~ 第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるラット R  
FRP-1 をコードする DNA としては、それぞれ配列番号: 8 または 51  
で表わされる塩基配列の第 1 7 2 番目 ~ 第 2 8 2 番目、第 2 1 4 番目 ~ 第 2  
8 2 番目、第 2 2 3 番目 ~ 第 2 8 2 番目、第 2 4 7 番目 ~ 第 2 8 2 番目また  
は第 2 5 0 番目 ~ 第 2 8 2 番目の塩基配列からなる DNA、

15 (x) 配列番号: 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目  
(Phe) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe)、  
第 1 2 0 番目 (Ser) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ~ 第  
1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるラット RFRP-3 をコードする  
DNA としては、それぞれ配列番号: 8 または 51 で表わされる塩基配列の  
20 第 3 5 2 番目 ~ 第 3 7 5 番目、第 3 5 5 番目 ~ 第 3 7 5 番目、第 3 5 8 番目  
~ 第 3 7 5 番目または第 3 6 1 番目 ~ 第 3 7 5 番目の塩基配列からなる DN  
A などが用いられる。

RFRP またはその部分ペプチドを完全にコードする DNA のクローニン  
グは、WO 00/29441 号、WO 01/66134 号などに記載の方法  
25 に従って行うことができる。

また、RFRP またはその部分ペプチドをコードする DNA から RFRP  
またはその部分ペプチドを製造する場合、WO 00/29441 号、WO 0  
1/66134 号などに記載の方法に従って行うことができる。

- RFRPもしくはその部分ペプチド、後述のOT7T022もしくはその部分ペプチド、およびこれらをコードするDNAは、自体公知の方法で標識化されていてもよく、具体的にはアイソトープラベル化されたもの、蛍光標識されたもの（例えば、フルオレセインなどによる蛍光標識）、ビオチン化
- 5    されたものまたは酵素標識されたものなどがあげられる。

- RFRPもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、RFRP部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対するレセプター蛋白質OT7T022（以下、OT7T022と略記する）
- 10    としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質が用いられる。

- OT7T022は、例えば、哺乳動物（例えば、ヒト、モルモット、ラット、マウス、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど）のあらゆる細胞（例えば、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓β細胞、骨髓細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、繊維芽細胞、
- 15    繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など）や血球系の細胞、またはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、
- 20    例えば、脳、脳の各部位（例、嗅球、扁桃核、大脳基底核、海馬、視床、視床下部、視床下核、大脳皮質、延髄、小脳、後頭葉、前頭葉、側頭葉、被殻、尾状核、脳梁、黒質）、脊髄、下垂体、胃、膵臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髓、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、末梢血球、前立腺、睾丸、精巣、
- 25    卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など（特に、脳や脳の各部位）に由来する蛋白質であってもよく、また合成蛋白質であってもよい。

配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と約50%以

上、好ましくは約70%以上、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

5 配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有する蛋白質としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を有し、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022と実質的に同質の活性を有するレセプター蛋白質などが好ましく、具体的には、配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質などがあげられる。

10 アミノ酸配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool)を用い、以下の条件(期待値=10;ギャップを許す;マトリクス=BLOSUM62;フィルタリング=OFF)にて計算  
15 することができる。

実質的に同質の活性としては、例えば、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などが挙げられる。実質的に同質とは、それらの活性が性質的に同質であることを示す。したがって、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などの活性が同等(例、約0.01~100倍、好ましくは約0.  
20 5~20倍、より好ましくは約0.5~2倍)であることが好ましいが、これらの活性の程度や蛋白質の分子量などの量的要素は異なってもよい。

リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などの活性の測定は、自体公知の方法に準じて行なうことができるが、例えば、後述するリガンドの決定方法やスクリーニング方法に従って測定することができる。

25 また、OT7T022としては、①配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上(好ましくは、1~30個程度、より好ましくは1~10個程度、さらに好ましくは数個(1または2個))のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：11または配列番

号：24で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それら欠失・付加・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質なども用いられる。

10 本明細書におけるOT7T022は、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022をはじめとするOT7T022は、C末端がカルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）、カルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）、アミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）のいずれであってもよい。

15 ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、 $n$ -プロピル、イソプロピルもしくは $n$ -ブチルなどの $\text{C}_{1-6}$ アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの $\text{C}_{5-6}$ シクロアルキル基、例えば、フェニル、 $\alpha$ -ナフチルなどの $\text{C}_{6-12}$ アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル- $\text{C}_{1-2}$ アルキル基もしくは $\alpha$ -ナフチルメチルなどの $\alpha$ -ナフチル- $\text{C}_{1-2}$ アルキル基などの $\text{C}_{7-14}$ アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

OT7T022がC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものもOT7T022の範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例  
25 えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、OT7T022には、上記したOT7T022において、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどの $\text{C}_{2-6}$ アルカノイル基などの $\text{C}_{1-6}$ アシル基など）で保護されているもの、



N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば、 $-OH$ 、 $-SH$ 、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など）が適当な保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどの $C_{2-6}$ アルカノイル基などの $C_{1-6}$ アシル基など）で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖蛋白質などの複合蛋白質なども含まれる。

OT7T022の具体例としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるラットOT7T022、配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるヒトOT7T022などが用いられる。

OT7T022の部分ペプチドとしては、前記したOT7T022の部分ペプチドであれば何れのものであってもよいが、例えば、OT7T022蛋白質分子のうち、細胞膜の外に露出している部位であって、レセプター結合活性を有するものなどが用いられる。

具体的には、配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022の部分ペプチドとしては、疎水性プロット解析において細胞外領域（親水性（Hydrophilic）部位）であると分析された部分を含むペプチドである。また、疎水性（Hydrophobic）部位を一部に含むペプチドも同様に用いることができる。個々のドメインを個別に含むペプチドも使い得るが、複数のドメインを同時に含む部分のペプチドでも良い。

OT7T022の部分ペプチドのアミノ酸の数は、前記したOT7T022の構成アミノ酸配列のうち少なくとも20個以上、好ましくは50個以上、より好ましくは100個以上のアミノ酸配列からなるペプチドなどが好ましい。

また、OT7T022の部分ペプチドは、上記アミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～20個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が付加し、または、そのアミ

ノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、より好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されていてもよい。

また、OT7T022の部分ペプチドはC末端がカルボキシル基（ $\text{—COOH}$ ）、カルボキシレート（ $\text{—COO}^-$ ）、アミド（ $\text{—CONH}_2$ ）またはエステル（ $\text{—COOR}$ ）（Rは上記と同意義を示す）のいずれであってもよい。

OT7T022の部分ペプチドがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものもOT7T022の範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、OT7T022の部分ペプチドには、前記したOT7T022と同様に、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。

OT7T022またはその部分ペプチドの塩としては、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸）との塩などが用いられる。

OT7T022またはその塩、およびOT7T022を発現する細胞またはその細胞膜画分は、WO00/29441号、WO01/66134号などに記載の方法に従って製造することができる。

OT7T022をコードするポリヌクレオチドとしては、OT7T022をコードする塩基配列（DNAまたはRNA、好ましくはDNA）を含有するものであればいかなるものであってもよい。該ポリヌクレオチドとしては、

OT7T022をコードするDNA、mRNA等のRNAであり、二本鎖であっても、一本鎖であってもよい。二本鎖の場合は、二本鎖DNA、二本鎖RNAまたはDNA:RNAのハイブリッドでもよい。一本鎖の場合は、センス鎖（即ち、コード鎖）であっても、アンチセンス鎖（即ち、非コード鎖）であってもよい。

OT7T022をコードするポリヌクレオチドを用いて、例えば、公知の実験医学増刊「新PCRとその応用」15(7)、1997記載の方法またはそれに準じた方法により、OT7T022のmRNAを定量することができる。

OT7T022をコードするDNAとしては、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりtotal RNAまたはmRNA画分を調製したものを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction（以下、RT-PCR法と略称する）によって増幅することもできる。

具体的には、OT7T022をコードするDNAとしては、例えば、配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるOT7T022と実質的に同質の活性（例、リガンド結合活性、シグナル情報伝達作用など）を有するレセプター蛋白質をコードするDNAであれば何れのものでもよい。

配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約

95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

塩基配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) を用い、以下の条件(期待値=10; ギャップを許す; フィルタリング=ON; マッチスコア=1; ミスマッチスコア=-3)にて計算することができる。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリンジェントな条件に従って行なうことができる。

該ハイストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約19~40 mM、好ましくは約19~20 mMで、温度が約50~70℃、好ましくは約60~65℃の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約19 mMで温度が約65℃の場合が最も好ましい。

より具体的には、配列番号: 11で表わされるアミノ酸配列からなるラットOT7T022をコードするDNAとしては、配列番号: 12で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号: 24で表わされるアミノ酸配列からなるヒトOT7T022をコードするDNAとしては、配列番号: 25または配列番号: 26で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。

OT7T022の部分ペプチドをコードするDNAとしては、前述したOT7T022の部分ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに使用する

ベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりmRNA画分を調製したものをを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (以下、RT-PCR法と略称する) によって増幅することもできる。

- 5      具体的には、OT7T022の部分ペプチドをコードするDNAとしては、例えば、(1) 配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列を有するDNAの部分塩基配列を有するDNA、または
- 10      (2) 配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022と実質的に同質の活性（例、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用など）を有するレセプター蛋白質をコードするDNAの部分塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

- 15      OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAからOT7T022またはその部分ペプチドを製造する場合、WO00/29441号、WO01/66134号などに記載の方法に従って行うことができる。

- 20      RFRP、その部分ペプチド、もしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体は、自体公知の方法、例えばWO00/29441号、WO01/66134号などに記載の方法に従って製造し、使用することができる。

OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体は、自体公知の方法、例えばWO00/29441号、WO01/66134号などに記載の方法に従って製造し、使用することができる。

- 25      RFRPまたはOT7T022をコードするDNAの塩基配列の一部、または該DNAと相補的な塩基配列の一部を含有してなるポリヌクレオチドとは、上記したRFRPまたはOT7T022の部分ペプチドをコードするDNAを包含するだけでなく、RNAをも包含する意味で用いられる。

本発明に従えば、RFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子の複製また

は発現を阻害することのできるアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）を、クローン化した、あるいは決定されたRFRPまたはOT7T022をコードするDNAの塩基配列情報に基づき設計し、合成しうる。そうしたポリヌクレオチド（核酸）は、RFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子のRNAとハイブリダイズすることができ、該RNAの合成または機能を阻害することができるか、あるいはRFRP関連RNAまたはOT7T022関連RNAとの相互作用を介してRFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子の発現を調節・制御することができる。RFRP関連RNAまたはOT7T022関連RNAの選択された配列に相補的なポリヌクレオチド、およびRFRP関連RNAまたはOT7T022関連RNAと特異的にハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドは、生体内および生体外でRFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子の発現を調節・制御するのに有用であり、また病気などの治療または診断に有用である。用語「対応する」とは、遺伝子を含めたヌクレオチド、塩基配列または核酸の特定の配列に相同性を有するあるいは相補的であることを意味する。ヌクレオチド、塩基配列または核酸とペプチド（蛋白質）との間で「対応する」とは、ヌクレオチド（核酸）の配列またはその相補体から誘導される指令にあるペプチド（蛋白質）のアミノ酸を通常指している。OT7T022遺伝子の5'端ヘアピンループ、5'端6-ベースペア・リピート、5'端非翻訳領域、ポリペプチド翻訳開始コドン、蛋白質コード領域、ORF翻訳開始コドン、3'端非翻訳領域、3'端パリンドローム領域、および3'端ヘアピンループは好ましい対象領域として選択しうるが、RFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子内の如何なる領域も対象として選択しうる。

目的核酸と、対象領域の少なくとも一部に相補的でハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドとの関係は、対象物と「アンチセンス」であるということができる。アンチセンス・ポリヌクレオチドは、2-デオキシD-リボースを含有しているポリデオキシリボヌクレオチド、D-リボースを含有しているポリリボヌクレオチド、プリンまたはピリミジン塩基のN-

- グリコシドであるその他のタイプのポリヌクレオチド、あるいは非ヌクレオチド骨格を有するその他のポリマー（例えば、市販の蛋白質核酸および合成配列特異的な核酸ポリマー）または特殊な結合を含有するその他のポリマー（但し、該ポリマーはDNAやRNA中に見出されるような塩基のペアリングや塩基の付着を許容する配置をもつヌクレオチドを含有する）などが挙げられる。それらは、2本鎖DNA、1本鎖DNA、2本鎖RNA、1本鎖RNA、さらにDNA:RNAハイブリッドであることができ、さらに非修飾ポリヌクレオチド（または非修飾オリゴヌクレオチド）、さらには公知の修飾の付加されたもの、例えば当該分野で知られた標識のあるもの、キャップの付いたもの、メチル化されたもの、1個以上の天然のヌクレオチドを類縁物で置換したもの、分子内ヌクレオチド修飾のされたもの、例えば非荷電結合（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホルアミデート、カルバメートなど）を持つもの、電荷を有する結合または硫黄含有結合（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）を持つもの、
- 15 例えば蛋白質（ヌクレアーゼ、ヌクレアーゼ・インヒビター、トキシン、抗体、シグナルペプチド、ポリーL-リジンなど）や糖（例えば、モノサッカライドなど）などの側鎖基を有しているもの、インターカレント化合物（例えば、アクリジン、プソラレンなど）を持つもの、キレート化合物（例えば、金属、放射活性をもつ金属、ホウ素、酸化性の金属など）を含有するもの、
- 20 アルキル化剤を含有するもの、修飾された結合を持つもの（例えば、 $\alpha$ アノマー型の核酸など）であってもよい。ここで「ヌクレオシド」、「ヌクレオチド」および「核酸」とは、プリンおよびピリミジン塩基を含有するのみでなく、修飾されたその他の複素環型塩基をもつようなものを含んでいて良い。こうした修飾物は、メチル化されたプリンおよびピリミジン、アシル化されたプリンおよびピリミジン、あるいはその他の複素環を含むものであってよい。
- 25 修飾されたヌクレオチドおよび修飾されたヌクレオチドはまた糖部分が修飾されていてよく、例えば、1個以上の水酸基がハロゲンとか、脂肪族基などで置換されていたり、あるいはエーテル、アミンなどの官能基に変換さ

れていてよい。

- 本発明のアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）は、RNA、DNA、あるいは修飾された核酸（RNA、DNA）である。修飾された核酸の具体例としては核酸の硫黄誘導体やチオホスフェート誘導体、そしてポリヌクレオシドアミドやオリゴヌクレオシドアミドの分解に抵抗性のものが挙げられるが、それに限定されるものではない。本発明のアンチセンス核酸は次のような方針で好ましく設計されうる。すなわち、細胞内でのアンチセンス核酸をより安定なものにする、アンチセンス核酸の細胞透過性をより高める、目標とするセンス鎖に対する親和性をより大きなものにする、そしてもし毒性があるならアンチセンス核酸の毒性をより小さなものにする。

こうして修飾は当該分野で数多く知られており、例えば J. Kawakami et al., Pharm Tech Japan, Vol. 8, pp. 247, 1992; Vol. 8, pp. 395, 1992; S. T. Crooke et al. ed., Antisense Research and Applications, CRC Press, 1993 などに開示がある。

- 本発明のアンチセンス核酸は、変化せしめられたり、修飾された糖、塩基、結合を含有していて良く、リポゾーム、ミクロスフェアのような特殊な形態で供与されたり、遺伝子治療により適用されたり、付加された形態で与えられることができる。こうして付加形態で用いられるものとしては、リン酸基骨格の電荷を中和するように働くポリリジンのようなポリカチオン体、細胞膜との相互作用を高めたり、核酸の取込みを増大せしめるような脂質（例えば、ホスホリピド、コレステロールなど）といった粗水性のものが挙げられる。付加するに好ましい脂質としては、コレステロールやその誘導体（例えば、コレステリルクロロホルメート、コール酸など）が挙げられる。こうしたものは、核酸の3' 端あるいは5' 端に付着させることができ、塩基、糖、分子内ヌクレオシド結合を介して付着させることができる。その他の基としては、核酸の3' 端あるいは5' 端に特異的に配置されたキャップ用の基で、エキソヌクレアーゼ、RNAseなどのヌクレアーゼによる分解を阻止するためのものが挙げられる。こうしたキャップ用の基としては、ポリ



エチレングリコール、テトラエチレングリコールなどのグリコールをはじめとした当該分野で知られた水酸基の保護基が挙げられるが、それに限定されるものではない。

アンチセンス核酸の阻害活性は、本発明の形質転換体、本発明の生体内や  
5 生体外の遺伝子発現系、あるいはG蛋白質共役型レセプター蛋白質の生体内  
や生体外の翻訳系を用いて調べることができる。該核酸それ自体公知の各種  
の方法で細胞に適用できる。

RFRPまたはOT7T022をコードするポリヌクレオチドに対する s  
iRNA（以下、本発明の s iRNA）は、RFRPまたはOT7T022  
10 をコードするRNAの一部とそれに相補的なRNAを含有する二重鎖RNA  
である。

s iRNAは、公知の方法（例、Nature, 411巻, 494頁, 2001年）に準じ  
て、本発明のポリヌクレオチドの配列を基に設計して製造することができる。

RFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部を含有するリボ  
15 ザイムは、公知の方法（例、TRENDS in Molecular Medicine, 7巻, 221頁, 2001  
年）に準じて、本発明のポリヌクレオチドの配列を基に設計して製造するこ  
とができる。例えば、公知のリボザイムの配列の一部をRFRPまたはOT  
7T022をコードするRNAの一部に置換することによって製造することが  
20 できる。RFRPまたはOT7T022をコードするRNAの一部として  
は、公知のリボザイムによって切断され得るコンセンサス配列NUX（式中、  
Nはすべての塩基を、XはG以外の塩基を示す）の近傍の配列などが挙げら  
れる。

後述するように、OT7T022を欠損した非ヒト哺乳動物の表現型から、  
RFRPおよびOT7T022は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、  
25 筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、  
情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんか  
ん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発  
行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎

機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下などに関与していることが分かった。

したがって、①RFRP、その部分ペプチド、もしくはそのアミドもしくは  
5 はそのエステルまたはその塩（以下、RFRPと略記する）、②RFRPを  
コードするDNA、③RFRPに対する抗体、④RFRPをコードするDNA  
に対するアンチセンスDNA、⑤OT7T022、その部分ペプチドまたは  
その塩（OT7T022と略記する）、⑥OT7T022をコードするDNA、  
⑦OT7T022に対する抗体、⑧OT7T022をコードするDNA  
10 Aに対するアンチセンスDNAは、以下のような用途を有している。

（1）RFRPの機能不全に関連する疾患の予防・治療・改善剤

a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT7T022ま  
たはd) OT7T022をコードするDNAを、RFRPまたはOT7T0  
22の機能不全に関連する疾患の予防・治療・改善剤などの医薬として使用  
15 することができる。

例えば、生体内においてRFRPまたはOT7T022が減少しているた  
めに、RFRPまたはOT7T022の機能が期待できない患者がいる場合  
に、a) RFRPを該患者に投与し該RFRPの量を補充したり、b) (イ)  
RFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAを該  
20 患者に投与し発現させることによって、あるいは(ロ) 対象となる細胞にR  
FRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAを挿入  
し発現させた後に、該細胞を該患者に移植することなどによって、患者の体  
内におけるRFRPまたはOT7T022の量を増加させ、RFRPまたは  
OT7T022の機能を十分に発揮させることができる。すなわち、RFR  
25 PをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAは、安全で  
低毒性なRFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患の予防お  
よび／または治療剤として有用である。

具体的には、a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT

- 7 T O 2 2 または d) O T 7 T O 2 2 をコードする DNA は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤として使用することができる。
- 5
- 10 R F R P または O T 7 T O 2 2 を上記予防・治療・改善剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。
- 一方、R F R P をコードする DNA または O T 7 T O 2 2 をコードする DNA を上記予防・治療・改善剤として使用する場合は、これら DNA を単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエーテッドウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、
- 15 常套手段に従って実施することができる。DNA は、そのまま、あるいは摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。
- 例えば、a) R F R P、b) R F R P をコードする DNA、c) O T 7 T O 2 2 または d) O T 7 T O 2 2 をコードする DNA は、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、
- 20 a) R F R P、b) R F R P をコードする DNA、c) O T 7 T O 2 2 または d) O T 7 T O 2 2 をコードする DNA を生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適
- 25

当な容量が得られるようにするものである。

- 錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴムの様な結合剤、結晶性セルロースの様な賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などの様な膨化剤、ステアリン酸マグネシウムの様な潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンの様な甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂の様な液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水の様なベヒクル中の活性物質、
- 10 胡麻油、椰子油などの様な天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアル
- 15 コール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート 80<sup>TM</sup>、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

- また、上記予防・治療・改善剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当な
- 20 アンプルに充填される。

- 25 このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

RFRPの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差

- 異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当たりに換算した量を投与することができる。
- 10 DNAの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによ
- 15 っても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当たりに換算した量を投与することができる。
- 20 (2) 遺伝子診断剤
- RFRPをコードするDNA、OT7T022をコードするDNA、またはこれらDNAに対するアンチセンスDNAは、プローブとして使用することにより、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）におけるRFRPまたはOT7T022
- 25 2をコードするDNAまたはmRNAの異常（遺伝子異常）を検出することができるので、例えば、該DNAまたはmRNAの損傷、突然変異あるいは発現低下や、該DNAまたはmRNAの増加あるいは発現過多などの遺伝子診断剤として有用である。

DNAまたはアンチセンスDNAを用いる上記の遺伝子診断は、例えば、自体公知のノーザンハイブリダイゼーションやPCR-SSCP法（ゲノミックス（Genomics），第5巻，874～879頁（1989年）、プロシー  
5 ジングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ユーエスエー（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America），第86巻，2766～2770頁（1989年））などにより実施することができる。

例えば、ノーザンハイブリダイゼーションによりRFRPまたはOT7T  
022の発現低下または発現過剰が検出された場合は、例えば、RFRPま  
10 たはOT7T022の機能不全または過剰発現に関連する疾患である可能性が高いまたは将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

RFRPまたはOT7T022の機能不全または過剰発現に関連する疾患としては、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神  
15 分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化、筋力変化など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化などが挙げられる。

20 特に、RFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患としては、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動  
25 量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下などが挙げられる。

一方、RFRPまたはOT7T022の過剰発現に関連する疾患としては、

例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性、特に筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少などが挙げられる。

- 5     (3) RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

RFRPまたはOT7T022をコードするDNAは、プローブとして用いることにより、RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングに用いることができる。

- 10     すなわち、本発明は、例えば、(i) 非ヒト哺乳動物のa) 血液、b) 特定の臓器、c) 臓器から単離した組織もしくは細胞、または(ii) 形質転換体等に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNA量を測定することによる、RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

- 15     RFRPまたはOT7T022のmRNA量の測定は具体的には以下のように行なう。

- (i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全モデルラット、マウス、ウサギなど）に対して、薬剤（例えば、免疫調節薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、  
20     明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。

- 得られた細胞に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNAは、例えば、通常の方法により細胞等からmRNAを抽出し、例えば、TaqMan  
25     PCRなどの手法を用いることにより定量することができ、自体公知の手段によりノーザンブロットを行うことにより解析することもできる。

- (ii) RFRPまたはOT7T022を発現する形質転換体をWO00/

29441号またはWO01/66134号に記載の方法に従い作製し、該形質転換体に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNAを同様にし  
て定量、解析することができる。

RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる化合物またはその塩  
5 のスクリーニングは、

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前（30分前～24時間前、好ましくは30分前～12時間前、より好ましくは1時間前～6時間前）もしくは一定時間後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは  
10 1時間後～24時間後）、または薬剤あるいは物理的ストレスと同時に試験化合物を投与し、投与後一定時間経過後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、細胞に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができ、

15 (ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に試験化合物を培地中に混合させ、一定時間培養後（1日後～7日後、好ましくは1日後～3日後、より好ましくは2日後～3日後）、該形質転換体に含まれるRFRPまたはOT7T022のmRNA量を定量、解析することにより行なうことができる。

試験化合物としては、例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、  
20 合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが用いられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

試験化合物は塩を形成していてもよく、試験化合物の塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸など）や塩基（例、有機酸など）などとの塩  
25 が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸など）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、



メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸など)との塩などが用いられる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩は、RFRPまたはOT7T022の発現量を変化させる作用を有する化合物またはその塩であり、具体的には、(イ) RFRPまたはOT7T022の発現量を増加させることにより、OT7T022を介する細胞刺激活性(例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 $Ca^{2+}$ 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cAMP生成抑制、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など)を増強させる化合物またはその塩、(ロ) RFRPの発現量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物またはその塩である。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物としては、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

該化合物の塩としては、前記したRFRPの塩と同様のものが用いられる。

上記スクリーニング方法で得られるRFRPまたはOT7T022の発現量を増加させる化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化、筋力変化など、好ましくは筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化または筋力変化、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤として用いることができる。

上記スクリーニング方法で得られるRFRPまたはOT7T022の発現量を減少させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したRFRPを含有する予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきRFRPまたはOT7T022の発現量を増加させる化合物またはその塩を約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では、通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきRFRPまたはOT7T022の発現量を増加させる化合物またはその塩を約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kgあたりに換算した量を投与することができる。

#### （４）抗体を用いる診断方法

RFRPまたはOT7T022に対する抗体（以下、本発明の抗体と略記する）は、RFRPまたはOT7T022を特異的に認識することができる

ので、被検液中のRFRPまたはOT7T022の検出や中和に使用することができる。

すなわち、本発明は、

(i) 本発明の抗体と、被検液および標識化されたRFRPまたはOT7T022とを競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化されたRFRPまたはOT7T022の割合を測定することを特徴とする被検液中のRFRPまたはOT7T022の定量法、および

(ii) 被検液と担体上に不溶化した本発明の抗体および標識化された本発明の別の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中のRFRPまたはOT7T022の定量法を提供する。

上記(ii)の定量法においては、一方の抗体がRFRPまたはOT7T022のN端部を認識する抗体で、他方の抗体がRFRPまたはOT7T022のC端部に反応する抗体であることが望ましい。

また、RFRPまたはOT7T022に対するモノクローナル抗体(以下、本発明のモノクローナル抗体)を用いてRFRPまたはOT7T022の定量を行うことができるほか、組織染色等による検出を行なうこともできる。これらの目的には、抗体分子そのものを用いてもよく、また、抗体分子のF(ab')<sub>2</sub>、Fab'、あるいはFab画分を用いてもよい。

本発明の抗体を用いるRFRPまたはOT7T022の定量法は、特に制限されるべきものではなく、被測定液中の抗原量(例えば、RFRP量またはOT7T022量)に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。例えば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法が好適に用いられるが、感度、特異性の点で、後述するサンドイッチ法を用いるのが特に好ましい。

標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、例えば、放射性同

- 位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{131}\text{I}]$ 、 $[^3\text{H}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ などが用いられる。上記酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、例えば、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、 $\beta$ -グルコシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンイソチオシアネートなどが用いられる。発光物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、抗体あるいは抗原と標識剤との結合にビオチン-アビジン系を用いることもできる。
- 10 抗原あるいは抗体の不溶化に当っては、物理吸着を用いてもよく、また通常酵素等を不溶化、固定化するのに用いられる化学結合を用いる方法でもよい。担体としては、アガロース、デキストラン、セルロースなどの不溶性多糖類、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、シリコン等の合成樹脂、あるいはガラス等があげられる。
- 15 サンドイッチ法においては不溶化した本発明のモノクローナル抗体に被検液を反応させ（1次反応）、さらに標識化した別の本発明のモノクローナル抗体を反応させ（2次反応）たのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することにより被検液中のRFRP量を定量することができる。1次反応と2次反応は逆の順序に行っても、また、同時に行なってもよいし時間をずらして行なってもよい。標識化剤および不溶化の方法は前記のそれらに準じることができる。また、サンドイッチ法による免疫測定法において、固相用抗体
- 20 あるいは標識用抗体に用いられる抗体は必ずしも1種類である必要はなく、測定感度を向上させる等の目的で2種類以上の抗体の混合物を用いてもよい。
- 本発明のサンドイッチ法によるRFRPまたはOT7T022の測定法に
- 25 においては、1次反応と2次反応に用いられる本発明のモノクローナル抗体は、RFRPまたはOT7T022の結合する部位が相異なる抗体が好ましく用いられる。すなわち、1次反応および2次反応に用いられる抗体は、例えば、2次反応で用いられる抗体が、RFRPまたはOT7T022のC端部を認

識する場合、1次反応で用いられる抗体は、好ましくはC端部以外、例えばN端部を認識する抗体が用いられる。

本発明のモノクローナル抗体をサンドイッチ法以外の測定システム、例えば、競合法、イムノメトリック法あるいはネフロメトリーなどに用いることができる。

競合法では、被検液中の抗原と標識抗原とを抗体に対して競合的に反応させたのち、未反応の標識抗原(F)と、抗体と結合した標識抗原(B)とを分離し(B/F分離)、B、Fいずれかの標識量を測定し、被検液中の抗原量を定量する。本反応法には、抗体として可溶性抗体を用い、B/F分離をポリエチレングリコール、前記抗体に対する第2抗体などを用いる液相法、および、第1抗体として固相化抗体を用いるか、あるいは、第1抗体は可溶性のものをを用い第2抗体として固相化抗体を用いる固相化法とが用いられる。

イムノメトリック法では、被検液中の抗原と固相化抗原とを一定量の標識化抗体に対して競合反応させた後、固相と液相を分離するか、あるいは、被検液中の抗原と過剰量の標識化抗体とを反応させ、次に固相化抗原を加え未反応の標識化抗体を固相に結合させた後、固相と液相を分離する。次に、いずれかの相の標識量を測定し被検液中の抗原量を定量する。

また、ネフロメトリーでは、ゲル内あるいは溶液中で抗原抗体反応の結果生じた不溶性の沈降物の量を測定する。被検液中の抗原量が僅かであり、少量の沈降物しか得られない場合にもレーザーの散乱を利用するレーザーネフロメトリーなどが好適に用いられる。

これら個々の免疫学的測定法を本発明の定量方法に適用するにあたっては、特別の条件、操作等の設定は必要とされない。それぞれの方法における通常の条件、操作法に当業者の通常の技術的配慮を加えてRFRPまたはOT7T022の測定系を構築すればよい。これらの一般的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参照することができる。

例えば、入江 寛編「ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和49年発行)、入江 寛編「続ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和54年発行)、石川

栄治ら編「酵素免疫測定法」(医学書院、昭和53年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第2版)(医学書院、昭和57年発行)、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」(第3版)(医学書院、昭和62年発行)、「Methods in ENZYMOLOGY」Vol. 70(Immunochemical Techniques(Part A))、同書 Vol. 5 73(Immunochemical Techniques(Part B))、同書 Vol. 74(Immunochemical Techniques(Part C))、同書 Vol. 84(Immunochemical Techniques(Part D : Selected Immunoassays))、同書 Vol. 92(Immunochemical Techniques(Part E : Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書 Vol. 121(Immunochemical Techniques(Part I : Hybridoma Technology and 10 Monoclonal Antibodies)) (以上、アカデミックプレス社発行)などを参照することができる。

以上のようにして、本発明の抗体を用いることによって、RFRPまたはOT7T022を感度良く定量することができる。

さらには、本発明の抗体を用いてRFRPまたはOT7T022の濃度を 15 定量することによって、RFRPまたはOT7T022の濃度の減少が検出された場合、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、 20 夜間自発行動量)の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加または筋力低下などの疾患である、または将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

また、RFRPまたはOT7T022の濃度の増加が検出された場合には、 25 例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量(特に、夜間自発行動量)の減少、痛み、モルヒネ耐性などの疾患である、または将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

(5) RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させ

る化合物またはその塩（アゴニスト、アンタゴニストなど）のスクリーニング方法、およびRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

- OT7T022を用いるか、または組換え型OT7T022の発現系を構築し、該発現系を用いたレセプター結合アッセイ系を用いることによって、
- 5 例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性などの予防・治療・改善薬として有用なRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物（例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物など）またはその塩を効率よくスクリーニングする
- 10
- 15 ことができる。

- このような化合物には、（イ）OT7T022を介して細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 $Ca^{2+}$ 遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cAMP生成抑制、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を有する化合物（いわゆる、OT7T022アゴニスト）、（ロ）OT7T022を介する細胞刺激活性を阻害する化合物（いわゆる、OT7T022アンタゴニスト）、（ハ）RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物、または（ニ）RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物などが含まれる。
- 20
- 25

すなわち、本発明は、

（1）RFRPおよび（または）OT7T022を用いることを特徴とする痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫

- 疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性など、特に痛覚障害、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少などの予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、
- 5 (2) (i) RFRPとOT7T022とを接触させた場合と (ii) RFRPとOT7T022および試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とする痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法を提供する。
- 15 痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性などの予防・治療・改善薬は、RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させ
- 20
- 25



る化合物またはその塩である。

本発明のスクリーニング方法においては、(i)と(ii)の場合における、例えば、OT7T022に対するRFRPの結合量、細胞刺激活性などを測定して、比較することを特徴とする。

5 より具体的には、本発明は、

a) 標識したRFRPを、OT7T022に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022に接触させた場合における、標識したRFRPのOT7T022に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化  
10 させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

b) 標識したRFRPを、OT7T022を含有する細胞または該細胞の膜面分に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022を含有する細胞または該細胞の膜面分に接触させた場合における、標識したRFRPの該細胞または該膜面分に対する結合量を測定し、比較する  
15 ことを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

c) 標識したRFRPを、OT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発  
20 現したOT7T022に接触させた場合における、標識したRFRPのOT7T022に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

d) RFRPを活性化する化合物またはその塩（例えば、RFRPなど）  
25 をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合と、RFRPを活性化する化合物またはその塩および試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合における、OT7T022を介した細胞刺激活性を測定し、

比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、および

- e) RFRPを活性化する化合物またはその塩（例えば、RFRPなど）をOT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養すること  
5 によって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合と、RFRPを活性化する化合物またはその塩および試験化合物をOT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合における、レセプターを介する細胞刺激活性を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との  
10 結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

- 本発明のスクリーニング方法では、RFRPの代わりに、RFRPとOT7T022との結合性を変化させる化合物またはその塩を用いることもできる。このRFRPとOT7T022との結合性を変化させる化合物またはその塩は、RFRPを用いて本発明のスクリーニング方法を実施することによって得ることができる。  
15

本発明のスクリーニング方法の具体的な説明を以下にする。

- まず、本発明のスクリーニング方法に用いるOT7T022としては、OT7T022を含有する哺乳動物の臓器の細胞膜画分が好適である。しかし、特にヒト由来の臓器は入手が極めて困難なことから、スクリーニングに用いられるものとしては、組換え体を用いて大量発現させたヒト由来のOT7T022などが適している。  
20

- OT7T022を製造するには、WO00/29441号またはWO01/66134号に記載の方法が用いられるが、OT7T022をコードするDNAを哺乳細胞や昆虫細胞で発現することにより行なうことが好ましい。  
25 目的とする蛋白質部分をコードするDNA断片には相補DNAが用いられるが、必ずしもこれに制約されるものではない。例えば、遺伝子断片や合成DNAを用いてもよい。OT7T022をコードするDNA断片を宿主動物細

胞に導入し、それらを効率よく発現させるためには、該DNA断片を昆虫を宿主とするバキュロウイルスに属する核多角体病ウイルス (nuclear polyhedrosis virus ; NPV) のポリヘドリンプロモーター、SV40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒトヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、SR $\alpha$ プロモーターなどの下流に組み込むのが好ましい。発現したレセプターの量と質の検査はそれ自体公知の方法で行うことができる。例えば、文献 [Nambi, P. ら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.) , 267巻, 19555~19559頁, 1992年] に記載の方法に従って行なうことができる。

したがって、本発明のスクリーニング方法において、OT7T022を含有するものとしては、それ自体公知の方法に従って精製したOT7T022であってもよいし、OT7T022を含有する細胞を用いてもよく、またOT7T022を含有する細胞の膜画分を用いてもよい。

本発明のスクリーニング方法において、OT7T022を含有する細胞を用いる場合、該細胞をグルタルアルデヒド、ホルマリンなどで固定化してもよい。固定化方法はそれ自体公知の方法に従って行なうことができる。

OT7T022を含有する細胞としては、OT7T022を発現した宿主細胞をいうが、該宿主細胞としては、大腸菌、枯草菌、酵母、昆虫細胞、動物細胞などが好ましい。

細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン (Kinematica社製) のよる破碎、超音波による破碎、フレンチプレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速 (500~3000 rpm) で短時間 (通常、約1~10分) 遠心し、

上清をさらに高速（15000～30000rpm）で通常30分～2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したOT7T022と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

OT7T022を含有する細胞や膜画分中のOT7T022の量は、1細胞当たり $10^3 \sim 10^8$ 分子であるのが好ましく、 $10^5 \sim 10^7$ 分子であるのが好適である。なお、発現量が多いほど膜画分当たりのOT7T022結合活性（比活性）が高くなり、高感度なスクリーニング系の構築が可能になるばかりでなく、同一ロットで大量の試料を測定できるようになる。

RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩をスクリーニングする上記のa)～c)を実施するためには、例えば、適当なOT7T022画分と、標識したRFRPが必要である。

OT7T022画分としては、天然型のOT7T022画分か、またはそれと同等の活性を有する組換え型OT7T022画分などが望ましい。ここで、同等の活性とは、同等のリガンド結合活性、シグナル情報伝達作用などを示す。

標識したRFRPとしては、標識したRFRP、標識したRFRPアナログ化合物などが用いられる。例えば $[^3\text{H}]$ 、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ 、 $[^{35}\text{S}]$ などで標識されたRFRPなどが用いられる。

具体的には、RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物のスクリーニングを行なうには、まずOT7T022を含有する細胞または細胞の膜画分を、スクリーニングに適したバッファーに懸濁することによりOT7T022標品を調製する。バッファーには、pH4～10（望ましくはpH6～8）のリン酸バッファー、トリス塩酸バッファーなどのRFRPとOT7T022との結合を阻害しないバッファーであればいずれでもよい。また、非特異的結合を低減させる目的で、CHAPS、Tween-80<sup>TM</sup>（花王アトラス社）、ジギトニン、デオキシコレートなどの界面活性剤をバッファーに加えることもできる。さらに、プロテアーゼによるOT7T022やRFRPの分解を抑える目的でPMSF、ロイ

ペプチン、E-64（ペプチド研究所製）、ペプスタチンなどのプロテアーゼ阻害剤を添加することもできる。0.01～10mlの該レセプター溶液に、一定量（5000～500000cpm）の標識したRFRPを添加し、同時に $10^{-4}$ M～ $10^{-10}$ Mの試験化合物を共存させる。非特異的結合量（NSB）を知るために大過剰の未標識のRFRPを加えた反応チューブも用意する。反応は約0～50℃、望ましくは約4～37℃で、約20分～24時間、望ましくは約30分～3時間行う。反応後、ガラス繊維濾紙等で濾過し、適量の同バッファーで洗浄した後、ガラス繊維濾紙に残存する放射活性を液体シンチレーションカウンターまたはγ-カウンターで計測する。拮抗する物質がない場合のカウント（ $B_0$ ）から非特異的結合量（NSB）を引いたカウント（ $B_0 - \text{NSB}$ ）を100%とした時、特異的結合量（ $B - \text{NSB}$ ）が、例えば、50%以下になる試験化合物を拮抗阻害能力のある候補物質として選択することができる。

RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩をスクリーニングする上記のd)～e)の方法を実施するためには、例えば、OT7T022を介する細胞刺激活性を公知の方法または市販の測定用キットを用いて測定することができる。

具体的には、まず、OT7T022を含有する細胞をマルチウェルプレート等に培養する。スクリーニングを行なうにあたっては前もって新鮮な培地あるいは細胞に毒性を示さない適当なバッファーに交換し、試験化合物などを添加して一定時間インキュベートした後、細胞を抽出あるいは上清液を回収して、生成した産物をそれぞれの方法に従って定量する。細胞刺激活性の指標とする物質（例えば、アラキドン酸など）の生成が、細胞が含有する分解酵素によって検定困難な場合は、該分解酵素に対する阻害剤を添加してアッセイを行なってもよい。また、cAMP産生抑制などの活性については、フォルスコリンなどで細胞の基礎的産生量を増大させておいた細胞に対する産生抑制作用として検出することができる。

細胞刺激活性を測定してスクリーニングを行なうには、適当なOT7T0

22を発現した細胞が必要である。OT7T022を発現した細胞としては、天然型のOT7T022を有する細胞株、上記の組換え型OT7T022を発現した細胞株などが望ましい。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

- 5      また、試験化合物としては、OT7T022の活性部位の原子座標およびリガンド結合ポケットの位置に基づいて、リガンド結合ポケットに結合するように設計された化合物が好ましく用いられる。OT7T022の活性部位の原子座標およびリガンド結合ポケットの位置の測定は、公知の方法あるいはそれに準じる方法を用いて行うことができる。

- 10      RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キットは、RFRP、OT7T022を含有する細胞またはその細胞膜画分を含有するものなどである。

本発明のスクリーニング用キットの例としては、次のものが挙げられる。

1. スクリーニング用試薬

- 15      a) 測定用緩衝液および洗浄用緩衝液

Hanks' Balanced Salt Solution (ギブコ社製) に、0.05%のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を加えたもの。

孔径0.45  $\mu\text{m}$ のフィルターで濾過滅菌し、4℃で保存するか、あるいは用時調製しても良い。

- 20      b) OT7T022 標品

OT7T022を発現させたCHO細胞を、12穴プレートに $5 \times 10^5$ 個/穴で継代し、37℃、5%CO<sub>2</sub>、95%airで2日間培養したもの。

c) 標識RFRP

市販の [<sup>3</sup>H]、[<sup>125</sup>I]、[<sup>14</sup>C]、[<sup>35</sup>S]などで標識したR

- 25      FRP

水溶液の状態のものを4℃あるいは-20℃にて保存し、用時に測定用緩衝液にて1  $\mu\text{M}$ に希釈する。

d) RFRP 標準液

RFRPを0.1%ウシ血清アルブミン(シグマ社製)を含むPBSで1 mMとなるように溶解し、-20℃で保存する。

## 2. 測定法

5 a) 12穴組織培養用プレートにて培養したOT7T022発現CHO細胞を、測定用緩衝液1 mlで2回洗浄した後、490  $\mu$  lの測定用緩衝液を各穴に加える。

b)  $10^{-3} \sim 10^{-10}$  Mの試験化合物溶液を5  $\mu$  l加えた後、標識RFRPを5  $\mu$  l加え、室温にて1時間反応させる。非特異的結合量を知るためには試験化合物の代わりに $10^{-8}$  MのRFRPを5  $\mu$  l加えておく。

10 c) 反応液を除去し、1 mlの洗浄用緩衝液で3回洗浄する。細胞に結合した標識RFRPを0.2 N NaOH-1% SDSで溶解し、4 mlの液体シンチレーターA(和光純薬製)と混合する。

d) 液体シンチレーションカウンター(ベックマン社製)を用いて放射性を測定し、Percent Maximum Binding (PMB) を次の式で求める。

15 
$$\text{PMB} = [(B - \text{NSB}) / (B_0 - \text{NSB})] \times 100$$

PMB : Percent Maximum Binding

B : 検体を加えた時の値

NSB : Non-specific Binding (非特異的結合量)

B<sub>0</sub> : 最大結合量

20 本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物としては、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

25 上記スクリーニング方法で得られる化合物の塩としては、前記したRFRPの塩と同様の塩が用いられる。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩は、RFRPとOT7T022との結合性またはシ

グナル伝達を変化させる作用を有する化合物またはその塩であり、具体的には、(イ) OT7T022を介して細胞刺激活性を有する化合物またはその塩（いわゆる、OT7T022アゴニスト）、(ロ) 該細胞刺激活性を有しない化合物またはその塩（いわゆる、OT7T022アンタゴニスト）、(ハ) RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩、または(ニ) RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩である。

OT7T022アゴニストであるか、アンタゴニストであるかの具体的な評価方法は以下の(i) および(ii) に従えばよい。

- 10 (i) 例えば、前記a)～c)のスクリーニング方法で示されるバインディング・アッセイを行い、RFRPとOT7T022との結合性を変化させる（特に、結合を阻害する）化合物またはその塩を得た後、該化合物またはその塩が上記したOT7T022を介する細胞刺激活性を有しているか否かを測定する。細胞刺激活性を有する化合物またはその塩はOT7T022アゴニストであり、該活性を有しない化合物またはその塩はOT7T022アンタゴニストである。

(ii) (a) 試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させ、上記OT7T022を介した細胞刺激活性を測定する。細胞刺激活性を有する化合物またはその塩はOT7T022アゴニストである。

- 20 (b) OT7T022を活性化する化合物（例えば、RFRPなど）をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合と、OT7T022を活性化する化合物および試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合における、OT7T022を介した細胞刺激活性を測定し、比較する。OT7T022を活性化する化合物による細胞刺激活性を減少させ得る化合物またはその塩はOT7T022アンタゴニストである。

OT7T022アゴニストは、RFRPが有する生理活性と同様の作用を有しており安全で低毒性な医薬として有用である。

OT7T022アンタゴニストは、RFRPが有する生理活性を抑制する



ことができるので、RFRPの生理活性を抑制するための安全で低毒性な医薬として有用である。

RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩は、RFRPが有する生理活性を増強することができるので、安全で低毒性な医薬として有用である。

RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩は、RFRPが有する生理活性を減少させることができるので、RFRPの生理活性を抑制するための安全で低毒性な医薬として有用である。

具体的には、本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られるOT7T022アゴニストおよびRFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する予防・治療・改善剤として有用である。

一方、本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られるOT7T022アンタゴニストおよびRFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして有用である。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩を上記の医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したRFRPを含有す

る予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

- 5     該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきOT7T022アゴニストを約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきOT7T022アゴニストを約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg  
10     当たりに換算した量を投与することができる。
- 15

（6）細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

- OT7T022に対する抗体は、OT7T022を特異的に認識することができるので、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングに用いることができる。
- 20

すなわち、本発明は、例えば、

- （i）非ヒト哺乳動物のa）血液、b）特定の臓器、c）臓器から単離した組織もしくは細胞等を破壊した後、細胞膜画分を単離し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することによる、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- 25

（ii）OT7T022を発現する形質転換体等を破壊した後、細胞膜画分を単離し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することによる、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリ

ーニング方法、

(iii) 非ヒト哺乳動物の a) 血液、b) 特定の臓器、c) 臓器から単離した組織もしくは細胞等を切片とした後、免疫染色法を用いることにより、細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上  
5 の該蛋白質を確認することによる、細胞膜における OT 7 T 0 2 2 の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

(iv) OT 7 T 0 2 2 を発現する形質転換体等を切片とした後、免疫染色法を用いることにより、細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することによる、細胞膜におけ  
10 る OT 7 T 0 2 2 の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

細胞膜画分に含まれる OT 7 T 0 2 2 の定量は具体的には以下のようにして行なう。

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、  
15 ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全ラット、マウス、化ウサギなど）に対して、薬剤（例えば、免疫調節薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、ある  
20 いは細胞を得る。得られた臓器、組織または細胞等を、例えば、適当な緩衝液（例えば、トリス塩酸緩衝液、リン酸緩衝液、ヘペス緩衝液など）等に懸濁し、臓器、組織あるいは細胞を破壊し、界面活性剤（例えば、トリトン X 1 0 0<sup>TM</sup>、ツイーン 2 0<sup>TM</sup> など）などを用い、さらに遠心分離や濾過、カラム分画などの手法を用いて細胞膜画分を得る。

25 細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン（Kinematica社製）による破碎、超音波による破碎、フレンチ

- プレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を
- 5 上清をさらに高速（15000～30000rpm）で通常30分～2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したOT7T022と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

- 細胞膜画分に含まれるOT7T022は、例えば、本発明の抗体を用いたサンドイッチ免疫測定法、ウエスタンブロット解析などにより定量することができる。
- 10

かかるサンドイッチ免疫測定法は上記の方法と同様に行なうことができ、ウエスタンブロットは自体公知の手段により行なうことができる。

(ii) OT7T022を発現する形質転換体を上記の方法に従い作製し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することができる。

- 15 細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングは、

- (i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前（30分前～24時間前、好ましくは30分前～12時間前、より好ましくは1時間前～6時間前）もしくは一定時間後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、または薬剤あるいは物理的ストレスと同時に試験化合物を投与し、投与後一定時間経過後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、細胞膜におけるOT7T022の量を定量することにより行なうことができ、
- 20

- 25 (ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に試験化合物を培地中に混合させ、一定時間培養後（1日後～7日後、好ましくは1日後～3日後、より好ましくは2日後～3日後）、細胞膜におけるRFRPの量を定量することにより行なうことができる。

細胞膜画分に含まれるOT7T022の確認は具体的には以下のようにして行なう。

- (iii) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全モデルラット、マウス、ウサギなど）に対して、薬剤（例えば、免疫調節薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。得られた臓器、組織または細胞等を、常法に従い組織切片とし、本発明の抗体を用いて免疫染色を行う。細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することにより、定量的または定性的に、細胞膜におけるOT7T022の量を確認することができる。

- (iv) OT7T022を発現する形質転換体等を用いて同様の手段をとることにより確認することもできる。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物は、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる作用を有する化合物であり、具体的には、

- (イ) 細胞膜におけるOT7T022の量を増加させることにより、OT7T022を介する細胞刺激活性を増強させる化合物、(ロ) 細胞膜におけるOT7T022の量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物である。

上記スクリーニング方法で得られる化合物の塩としては、前記したRFRPの塩と同様の塩が用いられる。

- 細胞膜におけるOT7T022の量を増加させることにより、細胞刺激活性を増強させる化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、

痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤として有用である。

細胞膜におけるOT7T022の量を減少させることにより、細胞刺激活性を減弱させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして有用である。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したRFRPを含有する予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、細胞膜におけるOT7T022の量を増加させる化合物またはその塩を一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では、通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、細胞膜におけるOT7T022の量を増加させる化合物またはその塩を一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg

g 程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重 60 kg 当たりに換算した量を投与することができる。

(7) RFRP または OT7T022 に対する抗体を含有してなる医薬

5 RFRP または OT7T022 に対して抗体（特に、中和抗体）は、RFRP または OT7T022 が関与するシグナル伝達、例えば、OT7T022 を介する細胞刺激活性を不活性化することができる。

したがって、RFRP または OT7T022 に対する抗体は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、  
10 モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

上記予防・治療・改善剤は、前記した RFRP を含有する医薬と同様にして製造し、使用することができる。

(8) アンチセンス DNA または siRNA を含有してなる医薬

15 RFRP をコードする DNA に対するアンチセンス DNA または OT7T022 をコードする DNA に対するアンチセンス DNA（以下、アンチセンス DNA と略記する）または本発明の siRNA は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの  
20 鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

例えば、該アンチセンス DNA または siRNA を用いる場合、該アンチセンス DNA または siRNA を単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエーテッドウイルスベクター  
25 などの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。該アンチセンス DNA または siRNA は、そのままで、あるいは摂取促進のために補助剤などの生理学的に認められる担体とともに製剤化し、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。

さらに、該アンチセンスDNAは、組織や細胞におけるRFRPまたはOT7T022をコードするDNAの存在やその発現状況を調べるための診断用オリゴヌクレオチドプローブとして使用することもできる。

(9) OT7T022ノックアウト動物

5    [OT7T022遺伝子発現不活性哺乳動物ES細胞]

OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物ES細胞とは、哺乳動物ES細胞が有するOT7T022遺伝子に人為的に変異を加えることにより、遺伝子の発現能を抑制するか、もしくは該遺伝子がコードしているOT7T022の活性を実質的に喪失させることにより、遺伝子が実質的にOT7T  
10    022の発現能を有さない不活性化された（以下、本発明のノックアウト遺伝子と称することがある）哺乳動物のES細胞をいう。

OT7T022遺伝子としては、前記したOT7T022をコードするDNAが用いられるが、具体的には、マウスOT7T022遺伝子としては、  
15    配列番号：27で表わされるアミノ酸配列からなるマウスOT7T022の部分蛋白質をコードする、配列番号：32または配列番号：28で表わされる塩基配列からなる遺伝子（ゲノムDNA）などが用いられる。

ラットOT7T022遺伝子としては、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022をコードする、配列番号：12で表わされる塩基配列を含有する遺伝子などが用いられる。

20    本明細書中、ES細胞の材料とする哺乳動物としては、例えば、ヒト、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、マウス、ラットなどが用いられる。

また、本明細書中、非ヒト動物としては、OT7T022遺伝子を有するヒト以外の動物ならば、いかなる動物でもよいが、非ヒト哺乳動物が好ましい。  
25    非ヒト哺乳動物としては、例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、マウス、ラットなどが用いられる。非ヒト哺乳動物のなかでも、病態動物モデル系の作製の面から個体発生および生物サイクルが比較的短く、また繁殖が容易なげっ歯動物、とりわけマウ



5 ス（例えば純系として、C57BL/6系統、DBA2系統など、交雑系として、B6C3F1系統、BDF1系統、B6D2F1系統、BALB/c系統、ICR系統など（なかでも好ましくは、純系として、C57BL/6系統など、交雑系として、BDF1系統またはICR系統など））またはラット（例えば、Wistar系統、SD系統など）などが特に好ましい。

OT7T022遺伝子に人為的に変異を加える方法としては、例えば、遺伝子工学的手法により該遺伝子配列の一部又は全部の削除、もしくは他遺伝子の挿入または置換があげられる。これらの変異により、例えば、コドンの読み取り枠をずらすか、プロモーターあるいはエキソンの機能を破壊することにより本発明のノックアウト遺伝子を作製することができる。

OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物（好ましくは、非ヒト哺乳動物）ES細胞（以下、OT7T022遺伝子不活性化ES細胞またはノックアウトES細胞と略記する）の具体例としては、例えば、薬剤耐性遺伝子（例えば、ネオマイシン耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子または

15 ゼオシン耐性遺伝子など、好ましくは、ネオマイシン耐性遺伝子など）、あるいはレポーター遺伝子（例えば、lacZ（大腸菌β-ガラクトシダーゼ遺伝子）、cat（クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ遺伝子）、GUS（β-グルクロニダーゼ遺伝子）、ルシフェラーゼ遺伝子、エクオリン遺伝子、タウマリン遺伝子、GFP（Green Fluorescent Protein）

20 遺伝子など、好ましくは、lacZなど）等を挿入することによりOT7T022遺伝子のエキソンの機能を破壊するか、あるいはエキソン間のイントロン部分に遺伝子の転写を終結させるDNA配列（例えば、polyA付加シグナルなど）を挿入し、完全なmRNAを合成できなくすることによって、結果的に遺伝子を破壊するように構築したDNA配列を有するDNAベクター

25 （以下、ターゲティングベクターと略記する）を作製する。レポーター遺伝子を挿入してエキソンの機能を破壊する場合、該レポーター遺伝子は、OT7T022プロモーターの制御下で発現するように挿入することが好ましい。

上記「薬剤耐性遺伝子」とは、抗生物質などの薬剤耐性に関与する遺伝子

を示し、導入される遺伝子が細胞において発現したか否かを選抜するマーカーとして利用される。

また、上記「レポーター遺伝子」とは、遺伝子発現の指標になる遺伝子群のことを示し、通常、発光反応や呈色反応を触媒する酵素の構造遺伝子が利用されることが多く、①遺伝的背景がないもの、②遺伝子発現を定量的に行える高感度の方法があるもの、③形質転換細胞への影響が少ないもの、④発現部位の局在性が示されるものなどが好ましく用いられる（植物細胞工学、第2巻、第721頁、1990）。また、上記の「薬剤耐性遺伝子」なども同じ目的で使用されるが、「レポーター遺伝子」は、単に導入される遺伝子が細胞において発現したかどうかだけではなく、どの組織でいつ発現したかを調べることができ、しかも定量的に発現量を正確に調べることができるものである。

さらに、ターゲティングベクターを、例えば、相同組換え法により該動物の染色体に導入し、得られたES細胞についてOT7T022遺伝子上あるいはその近傍のDNA配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析あるいはターゲティングベクター上のDNA配列とターゲティングベクター作製に使用したOT7T022遺伝子以外の近傍領域のDNA配列をプライマーとしたPCR法により解析し、本発明のノックアウトES細胞を選別することにより得ることができる。

上記のターゲティングベクターとしては、例えば、大腸菌由来のプラスミド（例、pBR322、pBR325、pUC12、pUC13など）、枯草菌由来のプラスミド（例、pUB110、pTB5、pC194など）、酵母由来のプラスミド（例、pSH19、pSH15など）、λファージなどのパクテリオファージ、モロニー白血病ウイルスなどのレトロウイルス、ワクシニアウイルスまたはアデノウイルスベクター、バキュロウイルス、ウシ乳頭腫ウイルス、ヘルペスウイルス群からのウイルス、またはエプスタイン・バー・ウイルスなどの動物ウイルスなどが用いられる。

また、相同組換え法等によりOT7T022遺伝子を不活性化させる元のES細胞としては、例えば、前述のような既に樹立されたものを用いてもよ

- く、また公知のEvansとKaufmanの方法に準じて新しく樹立したものでもよい。
- 例えば、マウスのES細胞の場合、現在、一般的には129系統のES細胞が使用されているが、免疫学的背景がはっきりしていないので、これに代わる純系で免疫学的に遺伝的背景が明らかなES細胞を取得するなどの目的で、
- 5  例えば、C57BL/6系統マウスやDBA/2系統との交雑種BDF1系統マウス（C57BL/6系統とDBA/2系統とのF1）を用いて樹立したものなども良好に用いる。BDF1系統マウスは、採卵数が多く、かつ、卵が操作上にであるという利点に加えて、C57BL/6系統マウスを遺伝的背景に持つので、これを用いて得られたES細胞は病態モデルマウスを作
- 10  出したとき、C57BL/6系統マウスと戻し交配することでその遺伝的背景をC57BL/6系統に戻すことが可能である点で有利に用い得る。

- また、ES細胞を樹立する場合、一般には受精後3.5日目の胚盤胞を使用するが、これ以外に8細胞期胚（受精後2.5日目頃の8細胞期胚が好ましい）を採卵し胚盤胞まで培養して用いることにより効率よく多数の初期胚を取得
- 15  することができる。

- また第二次セレクションは、G-パンディング法などを用いた核型分析等により行うことができる。得られるES細胞の染色体数は正常数の100%が望ましいが、樹立の際の物理的操作等の関係上困難な場合は、ES細胞の遺伝子をノックアウトした後、正常細胞（例えばマウスでは染色体数が $2n = 40$ である細胞）に再びクローニングすることが望ましい。
- 20

- このようにして得られたES細胞株は、通常その増殖性は大変良いが、個体発生できる再生能を失いやすいので、注意深く継代培養することが必要である。例えば、STO繊維芽細胞のような適当なフィーダー細胞上でLIF（1～10000U/ml）存在下に炭酸ガス培養器内（好ましくは、5%炭酸
- 25  ガス、95%空気または5%酸素、5%炭酸ガス、90%空気）で約37℃で培養するなどの方法で培養し、継代時には、例えば、トリプシン/EDTA溶液（通常0.001～0.5%トリプシン/0.1～5mM EDTA、好ましくは約0.1%トリプシン/1mM EDTA）処理により単細胞化し、

新たに用意したフィーダー細胞上に播種する方法などがとられる。このような継代は、通常1～3日毎に行なうが、この際に細胞の観察を行い、形態的に異常な細胞が見受けられた場合は、その培養細胞は放棄することが望まれる。

- 5       E S細胞は、適当な条件により、高密度に至るまで単層培養するか、または細胞集塊を形成するまで浮遊培養することにより、頭頂筋、内臓筋、心筋などの種々のタイプの細胞に分化させることが可能であり〔M. J. Evans及びM. H. Kaufman, ネイチャー (Nature) 第292巻、154頁、1981年; G. R. Martin  
10       ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.) 第78巻、7634頁、1981年; T. C. Doetschman ら、ジャーナル・オブ・エンブリオロジー・アンド・エク  
      スペリメンタル・モルフォロジー、第87巻、27頁、1985年〕、本発明のE S細胞を分化させて得られるO T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全細胞は、in vitro  
      におけるO T 7 T 0 2 2の細胞生物学的検討において有用である。

- 15       また、E S細胞を保存する場合には、適当な凍結用培地（例えば、10% DMSO、10%牛胎児血清を含むダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM) などを用いて、約-80℃以下で凍結保存する。

- 本発明のO T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物（以下、遺伝子発現不全非ヒト動物と称す場合がある）とは、例えば、前記のO T 7 T 0 2 2 遺伝  
20       子が不活性化された哺乳動物E S細胞由来の細胞を用いて遺伝子工学的に作出されたものであり、例えば、生殖細胞および体細胞に胚形成初期に不活性化O T 7 T 0 2 2 遺伝子配列を導入された非ヒト動物である。

      該非ヒト動物としては、前記と同様のものが用いられる。

- O T 7 T 0 2 2 遺伝子をノックアウトさせるには、前記のターゲティング  
25       ベクターを非ヒト動物E S細胞または非ヒト動物卵細胞に公知の方法（例えば、エレクトロポレーション法、マイクロインジェクション法、リン酸カルシウム法、リポフェクション法、凝集法、パーティクルガン法、DEAE-デキストラン法など）によって導入し（好ましい導入法としては、E S細胞

に導入する場合にはエレクトロポレーション法、卵細胞に導入する場合にはマイクロインジェクション法などがあげられる)、ターゲティングベクターの不活性化されたOT7T022遺伝子配列を相同組換えにより、非ヒト動物ES細胞または非ヒト動物卵細胞の染色体上のOT7T022遺伝子と入れ換えることにより行うことができる。

OT7T022遺伝子がノックアウトされた細胞は、OT7T022遺伝子上またはその近傍のDNA配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析またはターゲティングベクター上のDNA配列と、ターゲティングベクターに使用したマウス由来のOT7T022遺伝子以外の近傍領域のDNA配列とをプライマーとしたPCR法による解析で判定することができる。

非ヒト動物ES細胞を用いた場合は、相同組換えにより、OT7T022遺伝子が不活性化された細胞株をクローニングし、その細胞を胚形成の初期の適当な時期、例えば、8細胞期の非ヒト動物胚または胚盤胞に注入し（注入法）、またはOT7T022遺伝子が不活性化されたES細胞塊を2個の8細胞期胚ではさみ込む（集合キメラ法）ことにより作製したキメラ胚を偽妊娠させた該非ヒト動物の子宮に移植する。

作出された動物は正常なOT7T022遺伝子座をもつ細胞と人為的に変異したOT7T022遺伝子座をもつ細胞との両者から構成されるキメラ動物である。

該キメラ動物の生殖細胞の一部が変異したOT7T022遺伝子座をもつ場合、このようなキメラ個体と正常個体を交配することにより得られた個体群より、全ての組織が人為的に変異を加えたOT7T022遺伝子座をもつ細胞で構成された個体を、例えば、コートカラーの判定等により選別することにより得られる。このようにして得られた個体は、通常、OT7T022ヘテロ発現不全個体であり、OT7T022ヘテロ発現不全個体同志を交配し、それらの産仔からOT7T022ホモ発現不全個体を得ることができる。

卵細胞を使用する場合は、例えば、卵細胞核内にマイクロインジェクショ

ン法で遺伝子溶液を注入することによりターゲティングベクターを染色体内に導入したトランスジェニック非ヒト動物を得ることができ、これらのトランスジェニック非ヒト動物を比較することにより、相同組換えによりOT7T022遺伝子座に変異のあるものを選択することにより得られる。

- 5 OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、該動物のmRNA量を公知の方法を用いて測定して間接的にその発現量を比較することにより、正常動物と区別することが可能である。

- このようにしてOT7T022遺伝子がノックアウトされている個体は、交配により得られた動物個体も該遺伝子がノックアウトされていることを確認して通常の飼育環境で飼育継代を行なうことができる。
- 10

- さらに、生殖系列の取得および保持についても常法に従って行うことができる。即ち、該不活化遺伝子配列を保有する雌雄の動物を交配することにより、該不活化遺伝子配列を相同染色体の両方に持つホモザイゴート動物を取得することができる。得られたホモザイゴート動物は、母親動物に対して、
- 15 正常個体1，ホモザイゴート複数になるような状態で飼育することにより効率的に得ることができる。ヘテロザイゴート動物の雌雄を交配することにより、該不活化遺伝子配列を有するホモザイゴートおよびヘテロザイゴート動物を繁殖継代することができる。このようにして得られた該不活化遺伝子配列を有する動物の子孫も本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物
- 20 に含まれる。

本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物（特に、OT7T022ホモ欠損非ヒト動物、好ましくはOT7T022ホモ欠損マウス）は、次のような性質を有している。

- (1) 野生型動物に比べて、成熟齢以降に胸腺の重量が増加している。
- 25 (2) 野生型動物に比べて、後退歩行を主な特徴とする歩行異常さらに、振戦または痙攣などを示す場合がある。
- (3) 野生型動物に比べて、侵害刺激（例、熱侵害刺激）に対して反応性の低下が見られる。

(4) 野生型動物に比べて、攻撃的行動が多い。

(5) 野生型動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる。

(6) 野生型動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる。

5 (7) 野生型動物に比べて、筋力が低下している。

このようにOT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物ES細胞は、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物を作出する上で、非常に有用である。また、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022

10 遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じるより良い病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物およびOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物を用いた骨髓移植動物、もしくは

15 はそれらの組織またはそれらに由来する細胞は、OT7T022の欠損に起因する疾病、例えば、OT7T022により誘導され得る種々の生物活性の欠失に基づく、OT7T022の生物活性の不活性化に起因する疾病（例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、

20 不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下など）のより良いモデルとなり得るので、

25 これらの疾病の原因究明及び治療法の検討に有用である。ここで、他の病態モデル動物としては、例えば、血液細胞側のみの遺伝子発現の欠損あるいは上昇に局限させた骨髓移植を用いたモデルマウスも挙げられる [Linton, M. F., et al., Science 267: 1034-1037 (1995)]。骨髓移植マウスは遺伝子

機能の変化が限局されることで、より適した病態モデル動物となる可能性を秘めている。例えば、上記されたOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物をドナー動物として、その骨髄を採取し、あらかじめ放射線照射で骨髄を破壊した他のレシピエント動物に移植したマウス、  
5 あるいは、他の病態モデル動物をドナー動物として、その骨髄を採取し、あらかじめ放射線照射で骨髄を破壊したOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物をレシピエント動物として移植した骨髄移植マウスなども含まれる。

このように、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物  
10 に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発  
15 あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞を、該疾病の予防・治療・改善薬のスクリーニングに用いることができる。ここで、上記組織やそれに由来する細胞の例としては、  
20 肝臓や腎臓などのホモジネートを用いて特定の活性を測定する、あるいは、腹腔マクロファージを用いて特定産物の活性や産生量を測定することでスクリーニングに用いることができる。

#### [本発明のスクリーニング方法A]

本発明は、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、  
25 眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下、特に痛覚障害、



筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法を提供する。

- 本発明のスクリーニング方法において用いられるOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物の薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、
- OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞としては、前記と同様のものが挙げられる。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

- 具体的には、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物の薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物およびOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物（以下、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等と称する場合がある）、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞を、試験化合物で処理し、無処理の対照動物と比較し、
- 該動物の各器官、組織、細胞、疾病の症状等の変化、特に痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血

血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の改善効果を指標として試験化合物の予防・治療・改善効果を試験することができる。

試験動物（OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等）を試験化合物で処理する方法としては、例えば、経口投与、静脈注射などが用いられ、試験動物の症状、試験化合物の性質などにあわせて適宜選択することができる。また、試験化合物の投与量は、投与方法、試験化合物の性質などにあわせて適宜選択することができる。

例えば、肥満症の予防・治療・改善薬をスクリーニングする場合、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等にコレステロール負荷処置を行い、コレステロール負荷処置前または処置後に試験化合物を投与し、該動物の血中コレステロール値および体重変化などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。また、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等にSTZあるいはアロキサンなどの薬剤投与を行い、糖負荷処置前または処置後に試験化合物を投与し、該動物の血糖値および体重変化などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、該試験動物の体重が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上減少した場合、該試験化合物を肥満症に対して治療・予防効果を有する物質として選択することができる。

また、痛覚障害の予防・治療・改善薬をスクリーニングする場合、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等に試験化合物を投与し、該動物の痛み防御行動（例、なめる行動、あばれる行動、引っかき行動など）などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。さらには、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等にモルヒネなどの鎮痛薬の投与を行った後、試験化合物を投与し、該動物の痛み防御行動（例、

なめる行動、あばれる行動、引っかき行動など)などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、該試験動物の痛み防御行動が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上上昇した場合、該試験化合物を痛覚障害に  
5 対して治療・予防効果を有する物質として選択することができる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる予防・治療・改善薬は、上記した試験化合物から選ばれた化合物またはその塩を含有するものであり、OT7T022欠損によって引き起こされる疾患の予防・治療・改善効果を  
10 有するので、OT7T022の欠損によって引き起こされる疾病に対する安全で低毒性な治療・予防薬などの医薬として有用である。また、該化合物から誘導される化合物も同様に用いることができる。

該スクリーニング方法で得られた化合物の塩としては、例えば、無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性  
15 アミノ酸との塩などの薬学的に許容し得る塩などがあげられる。

無機塩基との塩の好適な例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、並びにアルミニウム塩、アンモニウム塩などがあげられる。

有機塩基との塩の好適な例としては、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、2,6-ルチジン、エタノールアミン、ジ  
20 エタノールアミン、トリエタノールアミン、シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミンなどとの塩があげられる。

無機酸との塩の好適な例としては、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン  
25 酸などとの塩があげられる。

有機酸との塩の好適な例としては、例えばギ酸、酢酸、プロピオン酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸などとの塩があげられる。

塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアルギニン、リジン、オルチニンなどとの塩があげられ、酸性アミノ酸との好適な例としては、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩があげられる。

- 本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を上
- 5 の治療・予防薬として使用する場合、常套手段に従って実施することができ、例えば、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、該化合物またはその塩を薬学的に認められる担体、
- 10 香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な容量が得られるようにするものである。

- 錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、
- 15 ゼラチン、コーンスターチ、トラガントゴム、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場
- 20 合には、前記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。

- 注射用の水溶液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助
- 25 薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが挙げられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例えば、エタノールなど）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、非イオン性界面活性剤（例えば、ポリソル

ベート 80™、HCO-50 など) などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが挙げられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。また、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液など）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトまたは温血動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、トリ、ネコ、イヌ、サル、チンパンジーなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、症状などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に成人（体重 60 kg として）の拒食症患者においては、一日につき約 0.1 ~ 100 mg、好ましくは約 1.0 ~ 50 mg、より好ましくは約 1.0 ~ 20 mg である。非経口的に投与する場合は、その 1 回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常成人（体重 60 kg として）の拒食症患者においては、一日につき約 0.01 ~ 30 mg 程度、好ましくは約 0.1 ~ 20 mg 程度、より好ましくは約 0.1 ~ 10 mg 程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重 60 kg 当たりに換算した量を投与することができる。

#### [本発明のスクリーニング方法 B]

本発明は、本発明の OT7T022 遺伝子発現不全非ヒト動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とする本発明の遺伝子に対するプロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

上記スクリーニング方法において、本発明の OT7T022 遺伝子発現不

全非ヒト動物としては、前記した本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物の中でも、OT7T022遺伝子がレポーター遺伝子を導入することにより不活性化され、該レポーター遺伝子がOT7T022遺伝子に対するプロモーターの制御下で発現しうるものが用いられる。

5 試験化合物としては、前記と同様のものがあげられる。

レポーター遺伝子としては、前記と同様のものが用いられ、β-ガラクトシダーゼ遺伝子(lacZ)、可溶性アルカリフォスファターゼ遺伝子またはルシフェラーゼ遺伝子などが好適である。

OT7T022遺伝子をレポーター遺伝子で置換された本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物では、レポーター遺伝子がOT7T022遺伝子に対するプロモーターの支配下に存在するので、レポーター遺伝子がコードする物質の発現をトレースすることにより、プロモーターの活性を検出することができる。

例えば、OT7T022遺伝子領域の一部を大腸菌由来のβ-ガラクトシダーゼ遺伝子(lacZ)で置換している場合、本来、OT7T022遺伝子の発現する組織で、OT7T022の代わりにβ-ガラクトシダーゼが発現する。従って、例えば、5-ブromo-4-クロロ-3-インドリル-β-ガラクトピラノシド(X-gal)のようなβ-ガラクトシダーゼの基質となる試薬を用いて染色することにより、簡便にOT7T022の動物生体内における発現状態を観察することができる。具体的には、OT7T022遺伝子欠損マウスまたはその組織切片をグルタルアルデヒドなどで固定し、リン酸緩衝生理食塩液(PBS)で洗浄後、X-galを含む染色液で、室温または37℃付近で、約30分ないし1時間反応させた後、組織標本を1mM EDTA/PBS溶液で洗浄することによって、β-ガラクトシダーゼ反応を停止させ、呈色を観察すればよい。また、常法に従い、lacZをコードするmRNAを検出してもよい。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、レポーター蛋白質の発現が約10%以上、好ましくは約30%以上、

- より好ましくは約50%以上増加した場合、該試験化合物をOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩として選択でき、試験動物に試験化合物を投与した場合、レポーター蛋白質の発現が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上減少した場合、該試験化合物をOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩として選択できる。

上記スクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩は、上記した試験化合物から選ばれた物質であり、OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩である。

- 10 該スクリーニング方法で得られた化合物の塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸など）や塩基（例、有機酸など）などとの塩が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸など）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸など）との塩などが用いられる。

- OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩は、OT7T022の発現を促進し、OT7T022の機能を促進することができるので、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下など疾患の予防・治療・改善剤などの医薬として使用することができる。

一方、OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩は、OT7T022の発現を阻害し、OT7T022の機能を

阻害することができるので、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などの医薬として使用することができる。

- 5       さらに、上記スクリーニングで得られた化合物から誘導される化合物も同様に用いることができる。

該スクリーニング方法で得られた化合物またはその塩を含有する医薬は、前記したスクリーニング方法Aで得られた化合物またはその塩を含有する医薬と同様にして製造することができる。

- 10       このようにして得られる製剤は、安全で低毒性であるので、例えば、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

- 15       該化合物またはその塩の投与量は、対象疾患、投与対象、投与ルートなどにより差異はあるが、例えば、痛覚障害の治療目的でOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する物質を経口投与する場合、一般的に成人患者（体重60kgとして）においては、一日につき該化合物またはその塩を約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mg投与する。非経口的に投与する場合は、該化合物またはその塩の1回投与量は投与対象、対象疾患などによっても異なるが、例えば、  
20       痛覚障害の治療目的でOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩を注射剤の形で通常成人患者（体重60kgとして）に投与する場合、一日につき該物質を約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg  
25       gあたりに換算した量を投与することができる。

このように、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、OT7T022遺伝子に対するプロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩をスクリーニングする上で極めて有用であり、OT7T022



遺伝子発現不全に起因する各種疾患の原因究明または予防・治療・改善薬の開発に大きく貢献することができる。

- また、OT7T022遺伝子のプロモーター領域を含有するDNAを使って、その下流に種々の蛋白質をコードする遺伝子を連結し、これを動物の卵細胞に注入していわゆるトランスジェニック動物（遺伝子移入動物）を作成すれば、特異的にそのペプチドを合成させ、その生体での作用を検討することも可能となる。さらに上記プロモーター部分に適当なレポーター遺伝子を結合させ、これが発現するような細胞株を樹立すれば、OT7T022そのものの体内での産生能力を特異的に促進もしくは抑制する作用を持つ低分子化合物の探索系として使用できる。

(10) 各種薬物の作用メカニズムの解明方法

OT7T022を用いることによって、各種薬物がOT7T022を介して薬理効果を発揮しているか否かを確認することができる。

すなわち、本発明は、

- (1) OT7T022を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善薬、鎮痛薬、モルヒネの鎮痛作用促進薬、モルヒネ耐性回避薬などがOT7T022に結合することを確認する方法、

- (2) OT7T022を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、

特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する予防・治療・改善薬がOT7T022に対するアゴニストであることを確認する方法、

- 5       (3) OT7T022を用いることを特徴とする、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善薬、鎮痛薬、モルヒネの鎮痛作用促進薬、モルヒネ耐性回避薬などがOT7T022に対するアンタゴニストであることを確認する方法、

- 10       (4) 各薬をOT7T022に接触させた場合における、各薬とOT7T022との結合量を測定することを特徴とする上記(1)～(3)記載のスクリーニング方法を提供する。

この確認方法は、前記したRFRPとOT7T022との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法において、試験化合物に代

- 15       て、上記の薬物を使用することによって実施することができる。

また、本発明の確認方法用キットは、前記したRFRPとOT7T022との結合性を変化させる化合物のスクリーニング用キットにおいて、試験化合物に代えて、上記の薬物を含有するものである。

- 20       このように、本発明の確認方法を用いることによって、市販または開発途中の各種薬物がOT7T022を介して薬理効果を発揮していることを確認することができる。

- 25       本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclatureによる略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

DNA               : デオキシリボ核酸

cDNA              : 相補的デオキシリボ核酸

	A	: アデニン
	T	: チミン
	G	: グアニン
	C	: シトシン
5	I	: イノシン
	R	: アデニン (A) またはグアニン (G)
	Y	: チミン (T) またはシトシン (C)
	M	: アデニン (A) またはシトシン (C)
	K	: グアニン (G) またはチミン (T)
10	S	: グアニン (G) またはシトシン (C)
	W	: アデニン (A) またはチミン (T)
	B	: グアニン (G)、グアニン (G) またはチミン (T)
	D	: アデニン (A)、グアニン (G) またはチミン (T)
	V	: アデニン (A)、グアニン (G) またはシトシン (C)
15	N	: アデニン (A)、グアニン (G)、シトシン (C) もしくはチミン (T) または不明もしくは他の塩基
	RNA	: リボ核酸
	mRNA	: メッセンジャーリボ核酸
	dATP	: デオキシアデノシン三リン酸
20	dTTP	: デオキシチミジン三リン酸
	dGTP	: デオキシグアノシン三リン酸
	dCTP	: デオキシシチジン三リン酸
	ATP	: アデノシン三リン酸
	EDTA	: エチレンジアミン四酢酸
25	SDS	: ドデシル硫酸ナトリウム
	BHA	: ベンズヒドリルアミン
	pMBHA	: p-メチルベンズヒドリルアミン
	Tos	: p-トルエンスルフォニル

	B z l	: ベンジル
	B o m	: ベンジルオキシメチル
	B o c	: t-ブチルオキシカルボニル
	D C M	: ジクロロメタン
5	H O B t	: 1-ヒドロキシベンズトリアゾール
	D C C	: N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド
	T F A	: トリフルオロ酢酸
	D I E A	: ジイソプロピルエチルアミン
	G l y	: グリシン
10	A l a または A	: アラニン
	V a l または V	: バリン
	L e u または L	: ロイシン
	I l e または I	: イソロイシン
	S e r または S	: セリン
15	T h r または T	: スレオニン
	C y s または C	: システイン
	M e t または M	: メチオニン
	G l u または E	: グルタミン酸
	A s p または D	: アスパラギン酸
20	L y s または K	: リジン
	A r g または R	: アルギニン
	H i s または H	: ヒスチジン
	P h e または F	: フェニルアラニン
	T y r または Y	: チロシン
25	T r p または W	: トリプトファン
	P r o または P	: プロリン
	A s n または N	: アスパラギン
	G l n または Q	: グルタミン

p G l u : ピログルタミン酸

本願明細書の配列表の配列番号は、以下の配列を示す。

〔配列番号：1〕

R F R P のアミノ酸配列（ヒト型）を示す。

5 〔配列番号：2〕

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：3〕

R F R P のアミノ酸配列（ヒト型）を示す。

10 〔配列番号：4〕

配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：5〕

R F R P のアミノ酸配列（ウシ型）を示す。

15 〔配列番号：6〕

配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：7〕

R F R P のアミノ酸配列（ラット型）を示す（リクローニング前）。

20 〔配列番号：8〕

配列番号：7 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：9〕

R F R P のアミノ酸配列（マウス型）を示す。

25 〔配列番号：10〕

配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする D N A の塩基配列を示す。

〔配列番号：11〕

ラット由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質 r O T 7 T 0 2 2 のアミノ酸配列を示す。

[配列番号：12]

5 ラット由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質 r O T 7 T 0 2 2 をコードする c D N A の塩基配列を示す。

[配列番号：13]

R F R P 部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

[配列番号：14]

R F R P 部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

10 [配列番号：15]

R F R P 部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

[配列番号：16]

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 8 1 番目 (Met) ～第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

15 [配列番号：17]

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ～第 1 1 2 番目 (Ser) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号：18]

20 配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 1 2 4 番目 (Val) ～第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号：19]

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (Met) ～第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号：20]

25 配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の、第 1 番目 (Met) ～第 1 1 2 番目 (Ser) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号：21]

配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の、第 1 番目 (Met) ～第 1 3 1 番

目 (Phe) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号：22]

RFRPのアミノ酸配列（ラット型）を示す（リクローニング後）。

[配列番号：23]

- 5 配列番号：22で表わされるアミノ酸配列を有するRFRPをコードするDNAの塩基配列を示す。

[配列番号：24]

ヒト由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質hOT7T022をコードするアミノ酸配列を示す。

- 10 [配列番号：25]

配列番号：24で表されるアミノ酸配列を有するhOT7T022をコードするDNAの塩基配列を示す。

[配列番号：26]

- 15 配列番号：24で表されるアミノ酸配列を有するhOT7T022をコードするDNAの塩基配列を示す。

[配列番号：27]

マウス由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質OT7T022の部分アミノ酸配列を示す。

[配列番号：28]

- 20 配列番号：27で表されるアミノ酸配列を有するマウス由来OT7T022をコードするゲノムDNAの塩基配列を示す。

[配列番号：29]

実施例3で使用したプライマーの塩基配列を示す。

[配列番号：30]

- 25 実施例3で使用したプライマーの塩基配列を示す。

[配列番号：31]

実施例3で使用したプライマーの塩基配列を示す。

[配列番号：32]

配列番号：27で表されるアミノ酸配列を有するマウス由来OT7T022をコードするゲノムDNAの塩基配列を示す。配列番号：28で表される塩基配列中のnを特定した配列である。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli*  
5 JM109/pKS-OT7T0221は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8210として寄託されている。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli*  
10 JM109/pKS-OT7T0222は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8211として寄託されている。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli*  
15 JM109/pKS-OT7T0223は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8212として寄託されている。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli*  
20 JM109/pKS-OT7T0224は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8213として寄託されている。

後述の実施例2で得られた形質転換体*Escherichia coli*  
25 JM109/p022Tgv-2は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM BP-8214として寄託されている。



## 実施例

以下に、実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はそれ  
に限定されるものではない。なお、大腸菌を用いての遺伝子操作法は、モ  
レキュラー・クローニング (Molecular cloning) に記載されている方法に従  
5 った。

## 実施例1 マウスOT7T022のクローニング

ラットOT7T022 cDNA (配列番号: 12、WO 00/29441号) をプロ  
ープにした。ラットcDNA の580-1170 bpのDNA断片をプローブとして作製し  
た (PCR-DIG プローブ合成キット、ロシュダイアゴニスティックス社)。その  
10 プローブを用いて、マウス129SvJラムダゲノムライブラリー (ストラタジ  
ン社) に1st プラークハイブリダイゼーションを行った結果、陽性プラーク  
が6個得られた。1st プラークハイブリダイゼーションで得られた6個の陽性  
プラークに対して2nd プラークハイブリダイゼーションを行い、2個の陽性ク  
ローンを単離した。

15 サザンハイブリダイゼーションを行った結果、約 4.5 kbpの Bam HI断片に  
OT7T022 のコード領域が存在することが判明した。常法によりクローニング  
したDNA断片をシークエンサー (パーキンエルマー社) により塩基配列を調べた  
結果、ラットOT7T022の3' 側 エクソン (0.9 kbp) と94%の相同性を有する  
断片であり、マウスOT7T022ゲノム DNAであることを確認した。さらにOT7T022  
20 をコードするBam HI 断片の5'側3.8 kbpおよび3'側5.5 kbpのBam HI 断片をク  
ローニングした。サザン解析により3' 側 エクソンから1.8 kbp以上はなれた  
上流に一つのエクソンが存在することがわかった (配列番号: 28または配  
列番号: 32)。

マウスOT7T022ゲノム DNAの断片を大腸菌 JM109株に形質転換し、形質  
25 転換体 *Escherichia coli* JM109/pKS-OT7T  
0221、形質転換体 *Escherichia coli* JM109/p  
KS-OT7T0222、形質転換体 *Escherichia coli*  
JM109/pKS-OT7T0223、形質転換体 *Escherichi*

a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 4 を取得した。

## 実施例2 ターゲッティングベクターの構築およびES相同組み換えの作製

OT7T022ターゲッティングベクターの構築は、3' 側 エクソンの5' 側 Sac  
I-Bam HI断片(3.2 kbp)、3' 側BstEII-Xho I断片(5.2 kbp)、ネオマイシン耐  
5 性遺伝子およびジフテリアトキシン遺伝子を用いて行い、3' 側 エクソン1.2  
kbpを欠失させた OT7T022 ターゲッティングベクターp022Tgv-2の構築を終了  
した(図1)。OT7T022 ターゲッティングベクターp022Tgv-2を大腸菌 J M 1  
0 9 株に形質転換し、形質転換体 *E s c h e r i c h i a c o l i J M*  
1 0 9 / p 0 2 2 T g v - 2 を取得した。OT7T022ターゲッティングベクター  
10 をマウス129SvEv系統由来ES 細胞(AB2.2系統)にエレクトロポレーションに  
より導入した。エレクトロポレーションはジーンパルサーエレクトロポレー  
ションシステム(バイオラッド社製)を用いて電圧 230 V, 抵抗値500  $\mu$ F, DNA  
溶液濃度30  $\mu$ g/mlの条件を設定して行った。

遺伝子導入実験は3回行い、それぞれ1000株以上のネオマイシン耐性株を得  
15 ることができた。ターゲッティングベクターp022Tgv-2によって得られた739株  
のネオマイシン耐性株を24ウェルプレートで培養し、-70℃凍結融解、  
Proteinase K処理後、エタノール沈殿によりDNAを抽出した。

そのうち595株のゲノムに対して5' 側のBam HI-Xho I 600 bp断片(ターゲ  
ティングベクターに用いたゲノムの外側の領域)をプローブとし、サザンハ  
20 イブリダイゼーションを行った。その結果、6株に相同組換え体と推定される  
5.4 kbのバンドがみられた(野生型3.8kb)。

相同組換え体と考えられるDNA 断片が検出された6種のES細胞株(No. 126,  
130, 283, 491, 532, 545) について、再確認のためサザン解析を行った。  
凍結保存しておいた各細胞を培養後、DNA を抽出し、Bam HI-Xho I切断後、  
25 上記600 bp断片をプローブとし、サザンハイブリダイゼーションを行った。  
その結果、全ての細胞において5.4 kb断片(野生型は3.8 kb断片のみが観察  
される)が再確認できた。また、プローブをネオマイシン耐性遺伝子として  
サザンハイブリダイゼーションを行った結果、2 kb付近に野生型、組換え体

共通に見られるバンドがあったが、組換え体のみに5.4 kbのバンドが確認でき、6種のES細胞すべてが相同組換え体であることが確認できた。

- 5 これら6系統の相同組換え体のうち増殖が良好であった3系統の相同組換え体細胞株 (No. 130, 283, 532) について核型分析のためフィーダー細胞存在下、ES細胞を25cm<sup>2</sup>フラスコにコンフルエントになるまで培養し、コルセミドを添加 (最終細胞密度0.1  $\mu$ g/ml) し、37℃、2時間培養した。PBSで洗浄後、トリプシン処理し、遠心1000rpm、5分した。ペレットに0.075M KCl 4mlを添加し室温で20分放置後、細胞浮遊液にカルノア液 (酢酸:メタノール比=1:3) を1滴添加後穏やかに懸濁した。室温放置60分させ、遠心し、ペレットをカルノア液4mlで穏やかに懸濁し、さらに室温放置した。30分5回程度繰り返した。遠心後ペレットにカルノア液2~3mlを加え適度な濃度に調製し、スライドグラス上に細胞浮遊液を2~3滴 滴下した。風乾後、3%ギムザ溶液で染色し、顕微鏡下で分裂期中期の染色体観察を行った。結果、正常核型を有する細胞の割合は61~69%であった。3系統の相同組換え体細胞株の核型異常がみられなかった。3系統の相同組換え体細胞株No. 283を選抜した。
- 10
- 15

### 実施例3 ノックアウトマウスの作製

- 相同組み換え細胞株No. 283をC57BL/6系統マウス胚盤胞へのインジェクションを常法により行った。インジェクションされた胚盤胞は別途精管結紮マウスと交配することによって得られた偽妊娠マウス卵管に移植することによって妊娠させた。283株については移植胚の約半分が産仔として生まれ、75%がキメラマウスであった。雄キメラマウスはC57BL/6系統雌マウスと交配し、産仔での生殖系列移行およびヘテロマウスの取得をおこなった。
- 20
- キメラとC57BL 系統マウスとの交配によって51 匹のES細胞 由来マウスが得られた。マウス尾よりゲノム DNAを精製し、まずPCR による遺伝子型判定の条件を検討した。検討の結果プライマーはターゲティングした領域の3' 側 (AGGTGCTCAGTGTGTAGAAGTGG (配列番号: 29)) を共通とし、また5' 側は野生型検出用として、欠損させた領域内の終止コドン付近配列 (ATCCCAGCCTGGAACATTTTGAGG (配列番号: 30))、変異型検出用としてネオ
- 25

- マイシン耐性遺伝子内配列 (TCATAGCCGAATACGGTCTCCAC (配列番号: 31))  
とし、ポリメラーゼはKOD-plus- (東洋紡株式会社製) を用いた。野生型は300  
bp断片のみを検出し、ヘテロ欠損個体であれば、300 bp および 600 bp断片  
を検出できるように設計されたPCR による遺伝子判定の結果、ヘテロ欠損マ  
ウスを得ることができた。次に、サザンハイブリダイゼーションを行って、  
5 遺伝子欠損の確認を行った。

#### 実施例 4 臓器重量の変化

- 雄ホモ欠損マウスの生後8週齢個体を頸椎脱臼により屠殺し、解剖を行った。  
各主要臓器を取り出して重量測定を行った。その結果、臓器重量においては野  
10 生型マウスとホモ欠損マウスに差異は認められなかった。生後13週齢の臓器  
重量測定の結果では、胸腺において野生型マウスに比べ、ホモ欠損マウスで有  
意な増加がみられた。

#### 実施例 5 体重、飲水量、摂食量

- ホモ欠損マウスの体重、摂餌量および飲水量について経時的变化を調べた。  
15 離乳後雄ホモ欠損マウスの体重変化は、野生型マウスに比べ差異はみられな  
かった。摂餌量および飲水量の経時的变化において雄雌性ホモ欠損マウスと  
も野生型マウスと差異はみられなかった。

#### 実施例 6 行動異常

- 日常行動および外見観察はIrwin (1968)の方法に準拠して行った。その結  
20 果、生後6ヶ月齢のホモ欠損マウス(雄性2例中、2例)において異常歩行が観察  
された。別ロットのホモ欠損マウス(7週齢)の中に後退歩行がみられ、後肢を  
引きずるような歩行異常も観察された。さらに振戦あるいは痙攣などを示す  
個体がみられたが、その程度は個体間差異がみられた。これら行動異常は  
C57BL/6Jおよび129SvEv系統の雑種において観察された。

#### 25 実施例 7 侵害刺激に対する反応

侵害刺激に対する反応について評価するためマウスで用いられている方法  
(Wilson SG, Mogil JS. Behav Brain Res 125:65-73, 2001)のなかで熱侵害  
刺激に対する反応性を評価するためホットプレート試験(熱板法とも呼ぶ)

を行った。

- 5 ホットプレート試験は市販のホットプレート式鎮痛効果測定装置を用いて行った。最初、55℃に熱したホットプレート上に直径15 cm高さ20 cmのガラス製円筒を置き、マウスをその円筒内にいれ、マウスが後肢を舐めるあるいは跳躍などの行動が現れるまでの時間を測定した。その結果、雄ホモ欠損マウスにおいて後肢を舐めるあるいは跳躍時間が有意に遅延した。

#### 実施例 8 攻撃行動

- 雄ホモ欠損マウスの行動観察を行ったところ、野生型マウスよりも他の雌雄マウスに対する攻撃性が観察された。さらに一部のマウスにおいてはハン  
10 ドリング時にtail rattling が観察され、飼育時においても軽微な挙尾反応が観察された。観察用ケージに雄マウスを2個体入れて相互の攻撃行動を観察する方法 (Nature 378:383-386, 1995) および (Nature 265:1875-1878, 1994) によりホモ欠損マウスの攻撃反応潜時を測定した。その結果、攻撃行動までの潜時がホモ欠損マウスで有意に短かった。これらの行動はC57BL/6Jおよび  
15 129SvEv系統の雑種において観察された。

#### 実施例 9 モルヒネ投与試験

- C57BL/6Jコンジェニック系統11週齢の雄ホモ欠損マウスを用いて52℃湯の入った水槽に尾先端から3cmのところまで浸漬して尾が水槽から出るまでの時間を熱侵害刺激に対する応答性として評価した (tail immersion test、温  
20 湯法とも呼ぶ)。

- 実験の最大時間 (cut off time) は20秒とした。ホモ欠損マウスおよびC57BL/6Jコンジェニック系統11週齢の野生型マウスはそれぞれvehicle投与群およびモルヒネ投与群に分けて実験を行った。投与前に上記のtail immersion testを行った結果、すべての群における反応平均時間に有意差は  
25 みられなかった。次にモルヒネ (kg 体重当たり5mg) あるいはvehicleを腹腔内投与後、15分後、30分後に同じ方法でtail immersion testを実施した。モルヒネ投与雄ホモ欠損マウス群の反応時間は、その他の群より長くなった。モルヒネ投与前のtail immersion testには野生型マウスとホモ欠損マウスの

反応latencyに差異はあったが、モルヒネ投与した野生型マウスは15分および30分後、latencyは投与前に比べて有意に延長したのに対してモルヒネ投与したホモ欠損マウスにおいてはモルヒネ投与後も熱刺激に対する反応のlatencyはモルヒネ投与前と変わらなかった。

5

#### 産業上の利用可能性

RFRPおよびOT7T022またはそれらをコードするDNAは、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下などの予防・治療・改善薬として有用である。

10

また、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、上記疾患の予防・治療・改善薬のスクリーニングに有用である。

## 請求の範囲

1. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミド  
5 もしくはそのエステルまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。
2. ポリペプチドが配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドである請求項1記載の剤。  
10
3. 部分ペプチドが、
- (i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目 (Ser) ～第92番目 (Phe)、第70番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ～第92番目 (Phe)  
15 または第84番目 (Ser) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第112番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第104番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第115番目 (Asn) ～第131番目 (Phe)、第124番目 (Val) ～第131番目 (Phe)、第125番目 (Pro) ～第131番目 (Phe)、第126番目 (Asn) ～第131番目 (Phe) または第127番目 (Leu) ～第131番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、  
20
- (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ～第92番目 (Phe)、第70番目 (Lys) ～第92番目 (Phe)、第73番目 (Met) ～第92番目 (Phe)、第81番目 (Met) ～第92番目 (Phe) または第84番目 (Ser) ～第92番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、  
25
- (v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ～第1

1 2 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 0 4 番目 (Ala) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 1 5 番目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 4 番目 (Val) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、  
5 第 1 2 5 番目 (Pro) ～第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 6 番目 (Asn) ～第 1 3 1 番目 (Phe) または第 1 2 7 番目 (Leu) ～第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、  
10

(viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、  
15

(ix) 配列番号：7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 2 番目 (Asp) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 7 5 番目 (Met) ～第 9 4 番目 (Phe)、第 8 3 番目 (Val) ～第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Pro) ～第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(x) 配列番号：7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 1 9 番目 (Pro) ～第 1 2 5 番目 (Phe)、第 1 2 0 番目 (Ser) ～第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ～第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、  
20

(xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ～ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド、  
25

(xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、



(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

(xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである請求項 1 記載の剤。

- 5 4. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

- 10 5. DNA が配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22 で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする DNA である請求項 4 記載の剤。

6. DNA が、

- 15 (i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 56 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

- 20 (ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド、

- (iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
- 25

- (iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Lys) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84

番目 (Ser) ～第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ～第 112 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ～第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Ala) ～第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ～第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ～第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ～第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ～第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ～第 94 番目 (Phe)、第 72 番目 (Val) ～第 94 番目 (Phe)、第 75 番目 (Met) ～第 94 番目 (Phe)、第 83 番目 (Val) ～第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ～第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ～第 125 番目 (Phe)、第 119 番目 (Pro) ～第 125 番目 (Phe)、第 120 番目 (Ser) ～第 125 番目 (Phe) または第 121 番目 (Leu) ～第 125 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(ix) 配列番号：7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ～第 94 番目 (Phe)、第 72 番目 (Asp) ～第 94 番目 (Phe)、第 75 番目 (Met) ～第 94 番目 (Phe)、第 83 番目 (Val) ～第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ～第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(x) 配列番号：7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ～第 125 番目 (Phe)、第 119 番目 (Pro) ～第 125 番目 (Phe)、第 120 番目 (Ser) ～第 125 番目 (Phe) または第 121 番目 (Leu) ～第 125 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(xi) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ～ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xii) 上記 (i) ～ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ～ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

5 (xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチド、

をコードする DNA である請求項 4 記載の剤。

7. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA  
10 NA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。

8. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミド  
15 もしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

9. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミド  
20 もしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化、筋力変化の診断剤。

10. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする  
25 DNA に相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンス DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

11. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増

加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

- 5 12. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

- 10 13. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

- 15 14. OT7T022が配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質である請求項13記載の剤。

- 20 15. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

16. DNAが配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAである請求項15記載の剤。

- 25 17. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。

18. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一

のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

- 5 19. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。
- 10 20. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。
- 15 21. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。
- 20 22. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。
- 25 23. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

24. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の
- 5 減少の予防・治療・改善剤。
25. 哺乳動物に対して、
- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、
- 10 (ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、
- (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増
- 15 加させる化合物またはその塩、
- (iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、
- (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一
- 20 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、
- (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または
- 25 (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・

治療・改善方法。

26. 哺乳動物に対して、

5 (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

10 (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、

15 (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

20 (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

25 (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の有効量を投与すること  
を特徴とする筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善方法。

27. 筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤を製造するための

- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、
- (ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の  
5 アミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、
- (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、
- 10 (iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、
- (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分  
15 ペプチドをコードするDNA、
- (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または
- (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一  
20 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の使用。
28. 筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤を製造するための
- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の  
25 アミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、
- (ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、



- (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、
- (iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の  
5 アミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、
- (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有する  
10 アンチセンスDNA、
- (vi) 配列番号：1.1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または
- (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一  
15 のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の使用。
29. OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞。
30. 薬剤耐性である請求項29記載の胚幹細胞。
31. 薬剤がネオマイシンである請求項29記載の胚幹細胞。
- 20 32. レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された請求項29記載の胚幹細胞。
33. レポーター遺伝子がlacZ遺伝子である請求項32記載の胚幹細胞。
34. 哺乳動物がマウスである請求項29記載の胚幹細胞。
35. OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：25、配列番号：  
25 26、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である請求項29記載の胚幹細胞。
36. OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物。
37. レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された請求項36記載の動物。

38. 非ヒト哺乳動物がマウスである請求項36記載の動物。
39. OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である請求項36記載の動物。
- 5 40. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、胸腺退縮遅延がみられる請求項36記載の動物。
41. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、後退歩行がみられる請求項36記載の動物。
42. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、侵害刺激に対して鈍麻がみられる請求項36記載の動物。
- 10 43. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、攻撃的行動が多い請求項36記載の動物。
44. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる請求項36記載の動物。
- 15 45. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる請求項36記載の動物。
46. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、筋力が低下している請求項36記載の動物。
47. 請求項36記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。
- 20 48. 請求項36記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする請求項47記載のスクリーニング方法。
- 25 49. 請求項36記載の動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる

病態モデル動物。

50. 請求項36記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物。

51. 請求項49記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病体モデル動物。

52. 請求項49～51のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

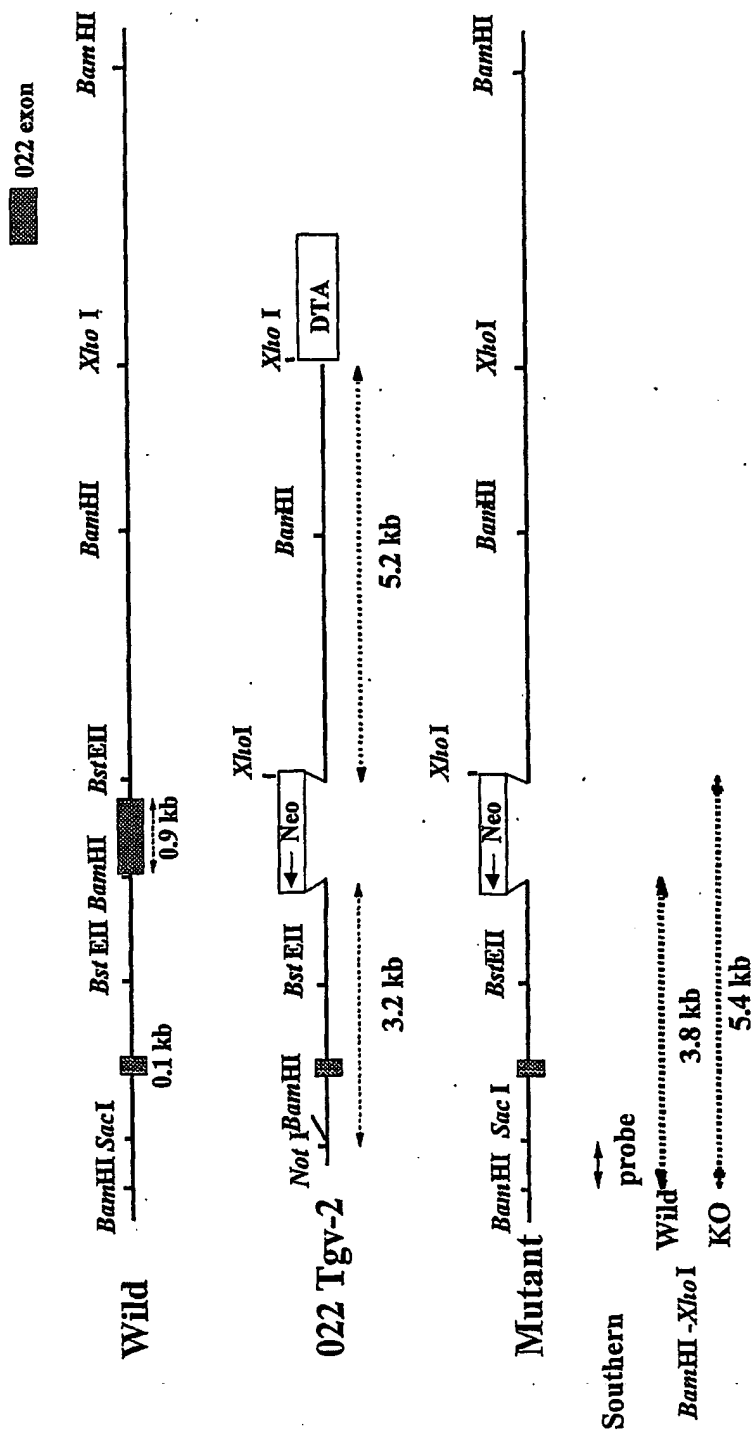
53. 請求項49～51のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

54. 請求項37記載の動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とするOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

55. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、

体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

- 5 56. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、
- 10 白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング用キット。



## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; Takeda Chemical Industries, Ltd.

&lt;120&gt; Novel Use of RFRP and OT7T022

&lt;130&gt; 3076W00P

&lt;150&gt; JP 2002-232684

&lt;151&gt; 2002-08-09

&lt;160&gt; 32

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 180

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 1

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Leu Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr  
1 5 10 15  
Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Ala Asp Glu Leu Val Met  
20 25 30  
Ser Asn Leu His Ser Lys Glu Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg  
35 40 45  
Gly Tyr Pro Lys Gly Glu Arg Ser Leu Asn Phe Glu Glu Leu Lys Asp  
50 55 60  
Trp Gly Pro Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Thr Pro Ala Val Asn Lys  
65 70 75 80  
Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Val  
85 90 95  
Gln Glu Glu Arg Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser  
100 105 110  
Gly Arg Asn Met Glu Val Ser Leu Val Arg Arg Val Pro Asn Leu Pro  
115 120 125

Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Thr Ala Lys Ser Val Cys Arg Met Leu  
 130 135 140  
 Ser Asp Leu Cys Gln Gly Ser Met His Ser Pro Cys Ala Asn Asp Leu  
 145 150 155 160  
 Phe Tyr Ser Met Thr Cys Gln His Gln Glu Ile Gln Asn Pro Asp Gln  
 165 170 175  
 Lys Gln Ser Arg  
 180

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 540

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 2

atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttggtta 60  
 acatcaaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat 120  
 tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaagggg aaagaagcct caattttgag 180  
 gaattaaaag attgggggacc aaaaaatggtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240  
 atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agatttgga ggaacgttca agaagaaaga 300  
 agtgctggag caacagccaa cctgcctctg agatctgga agaaatatgga ggtgagcctc 360  
 gtgagacgtg ttcctaacct gcccacaaagg tttgggagaa caacaacagc caaaagtgtc 420  
 tgcaggatgc tgagtgattt gtgtcaagga tccatgcatt caccatgtgc caatgactta 480  
 ttttactcca tgacctgcca gcaccaagaa atccagaatc ccgatcaaaa acagtcaagg 540

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 196

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 3

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Leu Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr

1 5 10 15  
Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Ala Asp Glu Leu Val Met  
20 25 30  
Ser Asn Leu His Ser Lys Glu Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg  
35 40 45  
Gly Tyr Pro Lys Gly Glu Arg Ser Leu Asn Phe Glu Glu Leu Lys Asp  
50 55 60  
Trp Gly Pro Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Thr Pro Ala Val Asn Lys  
65 70 75 80  
Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Val  
85 90 95  
Gln Glu Glu Arg Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser  
100 105 110  
Gly Arg Asn Met Glu Val Ser Leu Val Arg Arg Val Pro Asn Leu Pro  
115 120 125  
Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Thr Ala Lys Ser Val Cys Arg Met Leu  
130 135 140  
Ser Asp Leu Cys Gln Gly Ser Met His Ser Pro Cys Ala Asn Asp Leu  
145 150 155 160  
Phe Tyr Ser Met Thr Cys Gln His Gln Glu Ile Gln Asn Pro Asp Gln  
165 170 175  
Lys Gln Ser Arg Arg Leu Leu Phe Lys Lys Ile Asp Asp Ala Glu Leu  
180 185 190  
Lys Gln Glu Lys  
195

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 588

&lt;212&gt; DNA



&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 4

```

atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttggtta    60
acatcaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat    120
tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaagggg aaagaagcct caattttgag    180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatggtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa    240
atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agatttggga ggaacgttca agaagaaaga    300
agtgtctggag caacagccaa cctgcctctg agatctggaa gaaatatgga ggtgagcctc    360
gtgagacgtg ttcctaacct gccccaaagg tttgggagaa caacaacagc caaaagtgtc    420
tgcaggatgc tgagtgattt gtgtcaagga tccatgcatt caccatgtgc caatgactta    480
ttttactcca tgacctgcca gcaccaagaa atccagaatc ccgatcaaaa acagtcaagg    540
agactgctat tcaagaaaaat agatgatgca gaattgaaac aagaaaaa                588

```

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 196

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Bovine

&lt;400&gt; 5

```

Met Glu Ile Ile Ser Leu Lys Arg Phe Ile Leu Leu Met Leu Ala Thr
  1             5             10             15
Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Thr Asp Glu Ser Arg Met
      20             25             30
Pro Asn Leu Tyr Ser Lys Lys Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg
      35             40             45
Gly Asp Leu Gly Trp Glu Lys Glu Arg Ser Leu Thr Phe Glu Glu Val
      50             55             60
Lys Asp Trp Ala Pro Lys Ile Lys Met Asn Lys Pro Val Val Asn Lys
      65             70             75             80
Met Pro Pro Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Met

```

85	90	95
Glu Glu Glu Arg Ser Thr Arg Ala Met Ala His Leu Pro Leu Arg Leu		
100	105	110
Gly Lys Asn Arg Glu Asp Ser Leu Ser Arg Trp Val Pro Asn Leu Pro		
115	120	125
Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Thr Ala Lys Ser Ile Thr Lys Thr Leu		
130	135	140
Ser Asn Leu Leu Gln Gln Ser Met His Ser Pro Ser Thr Asn Gly Leu		
145	150	155
Leu Tyr Ser Met Ala Cys Gln Pro Gln Glu Ile Gln Asn Pro Gly Gln		
165	170	175
Lys Asn Leu Arg Arg Arg Gly Phe Gln Lys Ile Asp Asp Ala Glu Leu		
180	185	190
Lys Gln Glu Lys		
195		

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 588

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Bovine

&lt;400&gt; 6

atggaaatta tttcattaaa acgattcatt ttattgatgt tagccacttc aagcttggtta	60
acatcaaaca tcttctgcac agacgaatca aggatgccca atctttacag caaaaagaat	120
tatgacaaat attccgagcc tagaggagat ctaggctggg agaaagaaag aagtcttact	180
tttgaagaag taaaagattg ggctccaaaa attaagatga ataaacctgt agtcaacaaa	240
atgccacctt ctgcagccaa cctgccactg agatttggga ggaacatgga agaagaaagg	300
agcactaggg cgatggccca cctgcctctg agactcggaa aaaatagaga ggacagcctc	360
tccagatggg tcccaaattc gcccagagg ttggaagaa caacaacagc caaaagcatt	420
accaagaccc tgagtaattt gctccagcag tccatgcatt caccatctac caatgggcta	480

ctctactcca tggcctgccca gcccgaagaa atccagaatc ctggtcaaaa gaacctaagg 540  
agacggggat tccagaaaat agatgatgca gaattgaaac aagaaaaa 588

<210> 7

<211> 203

<212> PRT

<213> Rat

<400> 7

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr  
1 5 10 15  
Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Leu Cys Ser Asp Glu Leu Met Met  
20 25 30  
Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Tyr Gly Lys Tyr Tyr Gln Leu Arg  
35 40 45  
Gly Ile Pro Lys Gly Val Lys Glu Arg Ser Val Thr Phe Gln Glu Leu  
50 55 60  
Lys Asp Trp Gly Ala Lys Lys Asp Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala  
65 70 75 80  
Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg  
85 90 95  
Asn Ile Glu Asp Arg Arg Ser Pro Arg Ala Arg Ala Asn Met Glu Ala  
100 105 110  
Gly Thr Met Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr  
115 120 125  
Thr Ala Arg Arg Ile Thr Lys Thr Leu Ala Gly Leu Pro Gln Lys Ser  
130 135 140  
Leu His Ser Leu Ala Ser Ser Glu Ser Leu Tyr Ala Met Thr Arg Gln  
145 150 155 160  
His Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gln Glu Gln Pro Arg Lys Arg Val

165 170 175  
 Phe Thr Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Gln Glu Lys Ile Gly Asn  
 180 185 190  
 Leu Gln Pro Val Leu Gln Gly Ala Met Lys Leu  
 195 200

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 609

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 8

atggaaatta tttcatcaaa gcgattcatt ttattgactt tagcaacttc aagctttctta 60  
 acttcaaaca ccctttgttc agatgaatta atgatgcccc attttcacag caaagaaggt 120  
 tatggaaaat attaccagct gagaggaatc ccaaaagggg taaaggaaag aagtgtcact 180  
 tttcaagaac tcaaagattg gggggcaaag aaagatatta agatgagtcc agcccctgcc 240  
 aacaaagtgc ccactcagc agccaacctt cccctgaggt ttgggaggaa catagaagac 300  
 agaagaagcc ccagggcacg ggccaacatg gaggcaggga ccatgagcca ttttcccagc 360  
 ctgccccaaa ggtttgggag aacaacagcc agacgcatca ccaagacact ggctggtttg 420  
 ccccagaaat ccctgcactc cctggcctcc agtgaatcgc tctatgccat gaccgccag 480  
 catcaagaaa ttcagagtcc tggtaagag caacctagga aacgggtgtt cacggaaaca 540  
 gatgatgcag aaaggaaaca agaaaaata ggaaacctcc agccagtcct tcaaggggct 600  
 atgaagctg 609

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 188

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mouse

&lt;400&gt; 9

Met Glu Ile Ile Ser Leu Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Val Ala Thr  
 1 5 10 15

Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Phe Cys Thr Asp Glu Phe Met Met  
                   20                                  25                                  30  
 Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Asp Gly Lys Tyr Ser Gln Leu Arg  
                   35                                  40                                  45  
 Gly Ile Pro Lys Gly Glu Lys Glu Arg Ser Val Ser Phe Gln Glu Leu  
                   50                                  55                                  60  
 Lys Asp Trp Gly Ala Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala  
 65                                  70                                  75                                  80  
 Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg  
                                   85                                  90                                  95  
 Thr Ile Asp Glu Lys Arg Ser Pro Ala Ala Arg Val Asn Met Glu Ala  
                   100                                  105                                  110  
 Gly Thr Arg Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr  
                   115                                  120                                  125  
 Thr Ala Arg Ser Pro Lys Thr Pro Ala Asp Leu Pro Gln Lys Pro Leu  
                   130                                  135                                  140  
 His Ser Leu Gly Ser Ser Glu Leu Leu Tyr Val Met Ile Cys Gln His  
 145                                  150                                  155                                  160  
 Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gly Lys Arg Thr Arg Arg Gly Ala Phe  
                   165                                  170                                  175  
 Val Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Pro Glu Lys  
                   180                                  185

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 564

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mouse

&lt;400&gt; 10

atggaaatta tticattaaa acgattcatt ttattgactg tggcaacttc aagcttctta 60

```

acatcaaaca ccttctgtac agatgagttc atgatgcctc attttcacag caaagaaggt 120
gacggaaaat actcccagct gagaggaatc ccaaagggg aaaaggaaag aagtgtcagt 180
tttcaagaac taaaagattg gggggcaaag aatgttatta agatgagtcc agcccctgcc 240
aacaaagtgc ccctcagc agccaacctg ccctgagat ttggaaggac catagatgag 300
aaaagaagcc ccgcagcacg ggtcaacatg gaggcaggga ccaggagcca tttccccagc 360
ctgccccaaa ggtttgggag aacaacagcc agaagcccca agacaccgc tgatttgcca 420
cagaaacccc tgcactcact gggctccagc gagttgctct acgtcatgat ctgccagcac 480
caagaaattc agagtctgg tggaagcga acgaggagag gagcgtttgt ggaaacagat 540
gatgcagaaa ggaaaccaga aaaa 564

```

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 432

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 11

Met Glu Ala Glu Pro Ser Gln Pro Pro Asn Gly Ser Trp Pro Leu Gly

5

10

15

Gln Asn Gly Ser Asp Val Glu Thr Ser Met Ala Thr Ser Leu Thr Phe

20

25

30

Ser Ser Tyr Tyr Gln His Ser Ser Pro Val Ala Ala Met Phe Ile Ala

35

40

45

Ala Tyr Val Leu Ile Phe Leu Leu Cys Met Val Gly Asn Thr Leu Val

50

55

60

Cys Phe Ile Val Leu Lys Asn Arg His Met Arg Thr Val Thr Asn Met

65

70

75

80

Phe Ile Leu Asn Leu Ala Val Ser Asp Leu Leu Val Gly Ile Phe Cys

85

90

95

Met Pro Thr Thr Leu Val Asp Asn Leu Ile Thr Gly Trp Pro Phe Asp

100

105

110

Asn Ala Thr Cys Lys Met Ser Gly Leu Val Gln Gly Met Ser Val Ser  
115 120 125  
Ala Ser Val Phe Thr Leu Val Ala Ile Ala Val Glu Arg Phe Arg Cys  
130 135 140  
Ile Val His Pro Phe Arg Glu Lys Leu Thr Leu Arg Lys Ala Leu Phe  
145 150 155 160  
Thr Ile Ala Val Ile Trp Ala Leu Ala Leu Leu Ile Met Cys Pro Ser  
165 170 175  
Ala Val Thr Leu Thr Val Thr Arg Glu Glu His His Phe Met Leu Asp  
180 185 190  
Ala Arg Asn Arg Ser Tyr Pro Leu Tyr Ser Cys Trp Glu Ala Trp Pro  
195 200 205  
Glu Lys Gly Met Arg Lys Val Tyr Thr Ala Val Leu Phe Ala His Ile  
210 215 220  
Tyr Leu Val Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Val Arg Ile Ala  
225 230 235 240  
Arg Lys Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Arg Asp Thr Glu Glu Ala  
245 250 255  
Val Ala Glu Gly Gly Arg Thr Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His  
260 265 270  
Met Leu Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu  
275 280 285  
Trp Val Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Glu Leu Ser Glu Leu Gln  
290 295 300  
Leu His Leu Leu Ser Val Tyr Ala Phe Pro Leu Ala His Trp Leu Ala  
305 310 315 320  
Phe Phe His Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu  
325 330 335

Asn Phe Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Gln Leu Cys Trp  
                   340                          345                          350  
 Pro Pro Trp Ala Ala His Lys Gln Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Asn Arg  
                   355                          360                          365  
 Leu Leu Arg Arg Arg Val Val Val Asp Val Gln Pro Ser Asp Ser Gly  
                   370                          375                          380  
 Leu Pro Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Val Pro Gly Pro Gly Arg  
                   385                          390                          395                          400  
 Leu Pro Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His Gln Asp Gly Pro Gly Glu  
                           405                          410                          415  
 Gly Pro Gly Cys Asn His Met Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asn Ile  
                   420                          425                          430

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 1296

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 12

atggaggcgg agccctccca gcctcccaac ggcagctggc ccctgggtca gaacgggagt 60  
 gatgtggaga ccagcatggc aaccagcctc accttctcct cctactacca acactcctct 120  
 ccggtggcag ccatgttcat cgcggcctac gtgctcatct tcctcctctg catggtgggc 180  
 aacaccctgg tctgcttcat tgtgctcaag aaccggcaca tgcgcactgt caccaacatg 240  
 tttatcctca acctggccgt cagcgacctg ctggtgggca tcttctgcat gccacaacc 300  
 cttgtggaca accttatcac tggttggcct ttigacaag ccacatgcaa gatgagcggc 360  
 ttggtgcagg gcatgtccgt gtctgcatcg gttttcacac tgggtggccat cgctgtggaa 420  
 aggttccgct gcatcgtgca cctttccgc gagaagctga cccttcggaa ggcgctgttc 480  
 accatgcggg tgatctgggc tctggcgtg ctcatcatgt gtccctcggc ggtcactctg 540  
 acagtcaccc gagaggagca tcacttcatg ctggatgctc gtaaccgctc ctaccgctc 600  
 tactcgtgct gggaggcctg gcccgagaag ggcatgcgca aggtctacac cgcggtgctc 660



12/45

```

ttcgcgcaca tctacctggt gccgctggcg ctcatcgtag tgatgtacgt gcgcatcgcg 720
cgcaagctat gccaggcccc cggtcctgcg cgcgacacgg aggaggcggg ggccgagggg 780
ggccgcactt cgcgccgtag ggcccgcgtg gtgcacatgc tggatcatggt ggcgctcttc 840
ttcacgttgt cctggctgcc actctgggtg ctgctgctgc tcatcgacta tggggagctg 900
agcgagctgc aactgcacct gctgtcggtc tacgccttcc ccttggcaca ctggctggcc 960
ttcttcacaa gcagcgccaa ccccatcatc tacggctact tcaacgagaa cttccgccgc 1020
ggcttcacagg ctgccttcgg tgcacagctc tgctggcctc cctggggccg ccacaagcaa 1080
gcctactcgg agcggcccaa ccgcctcctg cgcaggcggg tgggtggtgga cgtgcaaccc 1140
agcgactcgg gcctgccatc agagtctggc ccagcagcgg gggctccagg gcctggccgg 1200
ctgccactgc gcaatgggcg tgtggcccat caggatggcc cgggggaagg gccaggctgc 1260
aaccacatgc cctcaccat ccgggcctgg aacatt 1296

```

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH<sub>2</sub>) form

&lt;400&gt; 13

Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe

1

5

10

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH<sub>2</sub>) form

&lt;400&gt; 14

Val Pro Asn Leu Pro Gln Arg Phe

1 5

<210> 15

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH<sub>2</sub>) form

<400> 15

Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser

1 5 10

<210> 16

<211> 36

<212> DNA

<213> Human

<400> 16

atgccacact ccttcgcaa cttgccattg agattt

36

<210> 17

<211> 36

<212> DNA

<213> Human

<400> 17

agtgctggag caacagccaa cctgcctctg agatct

36

<210> 18

<211> 24

<212> DNA

<213> Human

<400> 18

gttcctaacc tgccccaag gttt

24

<210> 19

<211> 276

<212> DNA

<213> Human

<400> 19

```
atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgta 60
acatcaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat 120
tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaagggg aaagaagcct caattttgag 180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatggtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240
atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agattt 276
```

<210> 20

<211> 336

<212> DNA

<213> Human

<400> 20

```
atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgta 60
acatcaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat 120
tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaagggg aaagaagcct caattttgag 180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatggtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240
atgccacact ccttcgccaa cttgccattg agatttgga ggaacgttca agaagaaaga 300
agtgtgtggag caacagccaa cctgcctctg agatct 336
```

<210> 21

<211> 393

<212> DNA

<213> Human

<400> 21

```
atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgta 60
acatcaaaca ttttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat 120
```

tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaagggg aaagaagcct caattttgag 180  
 gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240  
 atgccacact ccttcgcaa cttgccattg agatttggga ggaacgttca agaagaaaga 300  
 agtgctggag caacagccaa cctgcctctg agatctgga agaaatatgga ggtgagcctc 360  
 gtgagacgtg ttcctaacct gcccacaaagg ttt 393

<210> 22

<211> 203

<212> PRT

<213> Rat

<400> 22

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr

1 5 10 15

Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Leu Cys Ser Asp Glu Leu Met Met

20 25 30

Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Tyr Gly Lys Tyr Tyr Gln Leu Arg

35 40 45

Gly Ile Pro Lys Gly Val Lys Glu Arg Ser Val Thr Phe Gln Glu Leu

50 55 60

Lys Asp Trp Gly Ala Lys Lys Asp Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala

65 70 75 80

Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg

85 90 95

Asn Ile Glu Asp Arg Arg Ser Pro Arg Ala Arg Ala Asn Met Glu Ala

100 105 110

Gly Thr Met Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr

115 120 125

Thr Ala Arg Arg Ile Thr Lys Thr Leu Ala Gly Leu Pro Gln Lys Ser

130 135 140

16/45

Leu His Ser Leu Ala Ser Ser Glu Leu Leu Tyr Ala Met Thr Arg Gln  
 145                      150                      155                      160  
 His Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gln Glu Gln Pro Arg Lys Arg Val  
                          165                      170                      175  
 Phe Thr Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Gln Glu Lys Ile Gly Asn  
                          180                      185                      190  
 Leu Gln Pro Val Leu Gln Gly Ala Met Lys Leu  
                          195                      200

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 609

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 23

```

atggaaatta tttcatcaaa gcgattcatt ttattgactt tagcaacttc aagcttctta      60
acttcaaaca ccctttgttc agatgaatta atgatgcccc attttcacag caaagaaggt      120
tatggaaaat attaccagct gagaggaatc caaaagggg taaaggaaag aagtgtcact      180
tttcaagaac tcaaagattg gggggcaaag aaagatatta agatgagtcc agcccctgcc      240
aacaagtgc cccactcagc agccaacctt cccctgaggt ttgggaggaa catagaagac      300
agaagaagcc ccagggcacg ggccaacatg gaggcaggga ccatgagcca ttttcccagc      360
ctgccccaaa ggtttgggag aacaacagcc agacgcatca ccaagacact ggctggtttg      420
ccccagaaat ccctgcactc cctggcctcc agtgaattgc tctatgccat gaccgccag      480
catcaagaaa ttcagagtcc tggtaagag caacctagga aacgggtgtt cacggaaaca      540
gatgatgcag aaaggaaaca agaaaaata ggaaacctcc agccagtcct tcaaggggct      600
atgaagctg

```

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 430

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 24

Met Glu Gly Glu Pro Ser Gln Pro Pro Asn Ser Ser Trp Pro Leu Ser  
1 5 10 15  
Gln Asn Gly Thr Asn Thr Glu Ala Thr Pro Ala Thr Asn Leu Thr Phe  
20 25 30  
Ser Ser Tyr Tyr Gln His Thr Ser Pro Val Ala Ala Met Phe Ile Val  
35 40 45  
Ala Tyr Ala Leu Ile Phe Leu Leu Cys Met Val Gly Asn Thr Leu Val  
50 55 60  
Cys Phe Ile Val Leu Lys Asn Arg His Met His Thr Val Thr Asn Met  
65 70 75 80  
Phe Ile Leu Asn Leu Ala Val Ser Asp Leu Leu Val Gly Ile Phe Cys  
85 90 95  
Met Pro Thr Thr Leu Val Asp Asn Leu Ile Thr Gly Trp Pro Phe Asp  
100 105 110  
Asn Ala Thr Cys Lys Met Ser Gly Leu Val Gln Gly Met Ser Val Ser  
115 120 125  
Ala Ser Val Phe Thr Leu Val Ala Ile Ala Val Glu Arg Phe Arg Cys  
130 135 140  
Ile Val His Pro Phe Arg Glu Lys Leu Thr Leu Arg Lys Ala Leu Val  
145 150 155 160  
Thr Ile Ala Val Ile Trp Ala Leu Ala Leu Leu Ile Met Cys Pro Ser  
165 170 175  
Ala Val Thr Leu Thr Val Thr Arg Glu Glu His His Phe Met Val Asp  
180 185 190  
Ala Arg Asn Arg Ser Tyr Pro Leu Tyr Ser Cys Trp Glu Ala Trp Pro  
195 200 205  
Glu Lys Gly Met Arg Arg Val Tyr Thr Thr Val Leu Phe Ser His Ile

210                      215                      220  
Tyr Leu Ala Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Ala Arg Ile Ala  
225                      230                      235                      240  
Arg Lys Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Pro Gly Gly Glu Glu Ala  
                         245                      250                      255  
Ala Asp Pro Arg Ala Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His Met Leu  
                         260                      265                      270  
Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu Trp Ala  
                         275                      280                      285  
Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Gln Leu Ser Ala Pro Gln Leu His  
                         290                      295                      300  
Leu Val Thr Val Tyr Ala Phe Pro Phe Ala His Trp Leu Ala Phe Phe  
305                      310                      315                      320  
Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu Asn Phe  
                         325                      330                      335  
Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Arg Leu Cys Pro Arg Pro  
                         340                      345                      350  
Ser Gly Ser His Lys Glu Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Gly Gly Leu Leu  
                         355                      360                      365  
His Arg Arg Val Phe Val Val Val Arg Pro Ser Asp Ser Gly Leu Pro  
                         370                      375                      380  
Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Arg Pro Gly Arg Leu Pro  
385                      390                      395                      400  
Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His His Gly Leu Pro Arg Glu Gly Pro  
                         405                      410                      415  
Gly Cys Ser His Leu Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asp Ile  
                         420                      425                      430  
<210> 25

&lt;211&gt; 1290

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 25

```
atggaggggg agccctccca gcctcccaac agcagttggc ccctaagtca gaatgggact    60
aacactgagg ccaccccggc tacaacctc accttctcct cctactatca gcacacctcc    120
cctgtggcgg ccatgttcat tgtggcctat gcgctcatct tcctgctctg catgggtgggc    180
aacaccctgg tctgtttcat cgtgctcaag aaccggcaca tgcatactgt caccaacatg    240
ttcatcctca acctggctgt cagtgcctg ctgggtgggca tcttctgcat gccaccacc    300
cttgtggaca acctcatcac tgggtggccc ttcgacaatg ccacatgcaa gatgagcggc    360
ttggtgcagg gcatgtctgt gtcggcttcc gttttcacac tgggtggccat tgctgtggaa    420
aggttccgct gcatcgtgca ccctttccgc gagaagctga ccctgcggaa ggcgctcgtc    480
accatcgccg tcctctgggc cctggcgctg ctcatcatgt gtccctcggc cgtcacgctg    540
accgtcaccg gtgaggagca ccacttcatg gtggacgccc gcaaccgctc ctaccctctc    600
tactcctgct gggaggcctg gcccgagaag ggcatgcgca gggctctacac cactgtgctc    660
ttctgcaca tctacctggc gccgctggcg ctcatcgtgg tcatgtacgc ccgcatcgcg    720
cgcaagctct gccaggcccc gggcccggcc cccgggggcg aggaggctgc ggaccgcga    780
gcatcgcggc gcagagcgcg cgtggtgcac atgctggtca tgggtggcgt gttcttcacg    840
ctgtcctggc tgccgctctg ggcgctgctg ctgctcatcg actacgggca gctcagcgcg    900
ccgcagctgc acctggtcac cgtctacgcc ttccccttcg cgactggct ggccttcttc    960
aacagcagcg ccaaccccat catctacggc tacttcaacg agaacttccg ccgcggcttc   1020
caggccgcct tccgcgcccg cctctgcccg cgcccgtcgg ggagccacaa ggaggcctac   1080
tccgagcggc ccggcgggct tctgcacagg cgggtcttcg tgggtggtgc gccagcgac   1140
tccgggctgc cctctgagtc gggccctagc agtggggccc ccaggcccgg ccgcctcccg   1200
ctgcggaatg ggcggtggc tcaccacggc ttgccaggg aagggcctgg ctgctccac   1260
ctgcccctca ccattccagc ctgggatata                                     1290
```

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 1290



&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 26

```
atggaggggg agccctccca gcctcccaac agcagttggc ccctaagtca gaatgggact    60
aacactgagg ccaccccggc tacaacctc accttctcct cctactatca gcacacctcc    120
cctgtggcgg ccatgttcat tgtggcctat gcgctcatct tcctgctctg catggtgggc    180
aacaccctgg tctgtttcat cgtgctcaag aaccggcaca tgcatactgt caccaacatg    240
ttcatcctca acctggctgt cagtgcctg ctggtgggca tcttctgcat gcccaccacc    300
cttgtggaca acctcatcac tgggtggccc ttgcacaatg ccacatgcaa gatgagcggc    360
ttggtgcagg gcatgtctgt gtcggcttcc gttttcacac tggtgccat tgctgtggaa    420
aggttccgct gcatcgtgca ccctttccgc gagaagctga ccctgcggaa ggcgctcgtc    480
accatcgccg tcatctgggc cctggcgctg ctcatcatgt gtccctcggc cgtcacgctg    540
accgtcaccg gtgaggagca ccacttcatg gtggacgccc gcaaccgctc ctaccgctc    600
tactcctgct gggaggcctg gcccgagaag ggcatgcga ggggtctacac cactgtgctc    660
ttctgcaca tctacctggc gccgctggcg ctcatcgtgg tcatgtacgc ccgcatcgcg    720
cgcaagctct gccaggcccc gggcccggcc cccgggggcg aggaggctgc ggaccgcga    780
gcatcgcggc gcagagcgcg cgtggtgcac atgctggtca tggtgcgct gttcttcacg    840
ctgtcctggc tgccgctctg ggcgctgctg ctgctcatcg actacgggca gctcagcgcg    900
ccgcagctgc acctggtcac cgtctacgcc ttccccttcg cgcaactggt ggcttcttc    960
aacagcagcg ccaaccccat catctacggc tacttcaacg agaacttccg ccgcggcttc   1020
caggccgcct tccgcgcccg cctctgcccg cgcccgtcgg ggagccacaa ggaggcctac   1080
tccgagcggc ccggcgggct tctgcacagg cgggtcttcg tggtggtgcg gccagcgac   1140
tccgggtgct cctctgagtc gggccctagc agtggggccc ccaggcccgg ccgcctcccg   1200
ctgcggaatg ggcggtggc tcaccacggc ttgccaggg aagggcctgg ctgctccac   1260
ctgcccctca ccattccagc ctgggatatc                                     1290
```

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 430

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mouse

&lt;220&gt;

&lt;400&gt; 27

Gly Glu Pro Ser Gln Pro Pro Asn Gly Ser Trp Pro Pro Ser Leu Arg  
5 10 15  
Glu Ser Asp Ala Glu Thr Ala Pro Val Ala Ser Leu Thr Phe Ser Ser  
20 25 30  
Tyr Tyr Gln His Ser Ser Pro Val Ala Ala Met Phe Ile Ala Ala Tyr  
35 40 45  
Ala Leu Ile Phe Leu Leu Cys Met Val Gly Asn Thr Leu Val Cys Phe  
50 55 60  
Ile Val Leu Lys Asn Arg His Met Arg Thr Val Thr Asn Met Phe Ile  
65 70 75 80  
Leu Asn Leu Ala Val Ser Asp Leu Leu Val Gly Ile Phe Cys Met Pro  
85 90 95  
Thr Thr Leu Val Asp Asn Leu Ile Thr Gly Trp Pro Phe Asp Asn Ala  
100 105 110  
Thr Cys Lys Met Ser Gly Leu Val Gln Gly Met Ser Val Ser Ala Ser  
115 120 125  
Val Phe Thr Leu Val Ala Ile Ala Val Glu Arg Phe Arg Cys Ile Val  
130 135 140  
His Pro Phe Arg Glu Lys Leu Thr Leu Arg Lys Ala Leu Leu Thr Ile  
145 150 155 160  
Ala Val Ile Trp Ala Leu Ala Leu Leu Ile Met Cys Pro Ser Ala Val  
165 170 175  
Thr Leu Thr Val Thr Arg Glu Glu His His Phe Met Leu Asp Ala Arg  
180 185 190  
Asn Arg Ser Tyr Pro Leu Tyr Ser Cys Trp Glu Ala Trp Pro Glu Lys

22/45

195                      200                      205  
Gly Met Arg Lys Val Tyr Thr Ala Val Leu Phe Ala His Ile Tyr Leu  
210                      215                      220  
Ala Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Ala Arg Ile Ala Arg Lys  
225                      230                      235                      240  
Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Arg Asp Ala Glu Glu Ala Val Ala  
245                      250                      255  
Glu Gly Gly Arg Ala Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His Met Leu  
260                      265                      270  
Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu Trp Val  
275                      280                      285  
Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Glu Leu Ser Glu Leu Gln Leu His  
290                      295                      300  
Leu Leu Ser Val Tyr Ala Phe Pro Leu Ala His Trp Leu Ala Phe Phe  
305                      310                      315                      320  
His Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu Asn Phe  
325                      330                      335  
Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Gln Leu Cys Trp Leu Pro  
340                      345                      350  
Trp Ala Ala His Lys Gln Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Gly Arg Leu Leu  
355                      360                      365  
Arg Arg Arg Val Val Val Asp Val Gln Pro Ser Asp Ser Gly Leu Pro  
370                      375                      380  
Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Val Pro Gly Pro Asn Arg Leu Pro  
385                      390                      395                      400  
Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His Gln Asp Gly Pro Arg Glu Gly Pro  
405                      410                      415  
Gly Cys Asn His Met Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asn Ile

420

425

430

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 16984

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mouse

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (4706).. (5021)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (14061).. (14160)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (15476).. (16349)

&lt;400&gt; 28

```

caagttgccg ggcttgggag gtggggaaga gacaggggag tggcagtgag tgaggtggga      60
gggagtggtg tttctttatt taaacgtgca cttgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg      120
tgtgtgtgat gtatatgtgt gtggagacgt gattaggata tgagtgaaga tcagagggca      180
gtctgtgtgt gggagtgggg tctctcctcc taccacgtag gtcccaggga tcaaactcgg      240
gtcatcaggc ttggtagaag gcatcttacc tgctgagcca tctcgatgac ctggtttggc      300
ttggcggaaa ggtctcatgt agttcagggt ggccctcaaac tcagtatgtc accaagaatg      360
accttaaacc tctcatcctt ctgcctctgg agttctaggg gtatgggtgt accctagccc      420
ttggcttgca tgggtctggg gttggagcct gtggccttgt ggatgttaag tcaagctcct      480
atcagctgag ccccatctct agctcctgga ctgtgagtta aaaaaaaaaa aagtagaaga      540
ctatttaaaa aaaaaaagat gcaaaactat ttttcagtga aaaggaatgt cggctgacac      600
tcgcttcaga gcaactgagg aggaaagtca atggatgctg caggtggaca gacttcccgt      660
gggagtcctt tttaccattc catttctcat gggttcattaa actttatact tctgcatgtg      720
ttcgccaaaa taatctctct tgtacgtgcc cggatatata tatatattat tctattaaag      780

```

gtgtttgaat gctgttggag ctcttgaaag gcctgtgtgt gggggagtac catcatctct 840  
cagctccttc tctatcagta gaccctcat cccgccacac cctcctacag cccccactgg 900  
ctcctgcagc ccctaatagcc gctagtgcag tagcctgctg cccaggtgt ctgtctccag 960  
ccctcctgtg tgtgactgc gcctcgctcg ctcatctggc ttgcatgggtg ctggggttgg 1020  
agcctgtggc tttgtggatg ttaagtcaag ctctatcag ctgagcccca tctctagctc 1080  
ctggactgtg agttaaaaa aaaaaagta gaagactatt taaaaaaaa aagatgcaaa 1140  
actatcttc agtgaaaagg aatgtcggct gacactcgt tcagagcaac tgaggaggaa 1200  
agtcaatgga tgctgcaggt ggacagactt cccgtgggag tcctttttac cattccattt 1260  
ctcatggttc attaaacttt atacttctgc atgtgttcgc caaaataatc tctctgttac 1320  
gtgcccggat atatatatat attattctat taaaggtgtt tgaatgctgt tggagctctt 1380  
gaaaggcctg tgtgtggggg agtaccatca tctctcagct cttctctat cagtagaccc 1440  
ctcatccgc cacaccctcc tacagcccc actggctcct gcagccccta tgccgctagt 1500  
gcagtagcct gctgcccag gtgtctgtct ccagccctcc tgtgtgtgca ctgcgcctcg 1560  
ctcgtcata gccagtggct gagcgtggg ctccacagaa agactcccca gggccacttc 1620  
atcctccaga atgggcccc tccagcccc gaggaagac atgaggggaa cttttaagac 1680  
aacaccatga ctcaccaccg ctaatgactt ccagaagag ttatgattgg aactggact 1740  
gctccctccg aaagaagact agggaaacac aactcagcc tgctgctaag gagaaacatg 1800  
tggacagggc acttcccata gatactgcag gggcaggtaa acccagattg gtattcctgc 1860  
cagcaggggg tgcaaagaga aagaataggt tgctatgggt gcttgggagt tctagaagca 1920  
tgggctagag tgtcttgctt tgttttctt tcctttcctt ttcttttctt ttctttctt 1980  
ctttctctt ttctgtctt aaaacttatt tatttaatgt atgtgagtac actgtagctg 2040  
tacccttcat gtggttggtt ggaattgaat ttaggacct ctgctactc cagtcagccc 2100  
tgctcgctca ggaccaaaga ttattttatt attatacata agtacactgt agctgacttc 2160  
agacacacca ggagagggcg tcagatctca ttatgggtgg ttgtgagcca ccatgtggtt 2220  
gctgggactt gaactcagga cctctgggag agcagtcagt gctcttacc gctgagccat 2280  
ctgccagcc ccttgcttca tttttctatt gctataacaa atatccaaga ttgagtagtt 2340  
tataagaagt ccaaaagcat ggcccttctg ttcagggcct gtttctgca ttctaactg 2400  
gtgagggcat cgtgtggcca actagaacaa gcacgtggcc tggcagagag gcctcggcca 2460

tcgagtgcac ttgctctttg tggatgatga agtgggtcca ttaggaggca tggccttggt 2520  
ggaggaagtg tgtcactgtg taggagggtt ttgagggttc ctagtgctca agtgctaccc 2580  
agtgcagaac actcagtcac tcctggttgt cctatgatca agatctagaa ctctcagctt 2640  
cttctgcagc actgtgtctg tctgcatgct gccagggttc ttgctatgat gataatggac 2700  
tgaacctctg aaactgtaag ccagcccca ttaaattgtt gcctttgtta gagtagcctt 2760  
ggatcatggt cctgttcaca gcaatagaaa ccttaactaa gacacagttc ttgaagagga 2820  
tggagttcct agcacccatg gccagcaact caccataact cttgttccag ggaatctggt 2880  
gccctcttct ggcttttaag tgtatacaca cacaccacac acacacacac accacacaca 2940  
cacacacaca cacacacaca tacacaccac acacacacac acacaccaca gagagagaga 3000  
agcacaatag ctccaggatt ttcttatgta atcaccaatg atgtcacagg agtccacca 3060  
tgtaacttcc tataaatcta actctcttcg attttaataa ttactatat gtgggtgtgt 3120  
gtcagatcct ggattacaga cagtcattgac ctgccatgtg gatgctggga attgaaccgc 3180  
gattgctgag ccattctctc tgcctcctaa ctactctca gaagccgcag ttccaaatac 3240  
ctttgacaca tgctttgagg gaattaaagt gtctagacat gaggttacct tgaaggcaca 3300  
ataaggactc actctacagg acaagagctg tgtctgctaa cagtactggt ccagggcagg 3360  
aaggagagcca ggaagcaaaa actgactcct ctcttgcttc ccacctcatt tagggcttcc 3420  
cattgactga gtctaaccag aagctggcag gatgggggtcc tttagaagtt agactcttgg 3480  
gcccaggagc atagctcagt tggatatgta cttgcctaac atgcacaaag ctccagggtc 3540  
tatcacatac agtgtacagg ttgacacact tcattctcagc actcagggtg tagaggcagg 3600  
agggttaagag ttccaggcca tccttagcta aagtgggtgag ttcaaggcca gcctgatatg 3660  
gaagacctg tcaccaaga agtcttctga gacccaaaag atgacatgaa gcacaggag 3720  
aagggtgtga tggagactag ccaatgtgat tggaggatga gggccagca cattgggtgt 3780  
gaggtttggg caaactcaa agtccttgat cagaggacgg aggggtgtta aatggtcaag 3840  
aatgcttggt cttccaggag acctgatct ggctcctagc acctcattg tgaccacaa 3900  
aacatccata actctagttc tagggcactc agcacacaca ccattgcacat acacgtgtgc 3960  
aggcaaaaca ttcaaaaatc taaaaattaa aaaataaaat aaaataaaat tcttgacagt 4020  
gtgcccagtt gtccttgaga cagtggacag taataagtgg gcttagggta tatgtgatgg 4080  
ttgtatatg cttgctcaga gagtagcact attaggaggt gtggtcttgt gggagtaggt 4140

gtgtcactgt ggggtgtgagc ttaagagcct catcctagct ccctggaagc cagtcttctc 4200  
ctagcagtct tcagatgaag atgcagaact ctcagctcct cctacaccat gtctgcctgg 4260  
atgttgctat gctccacact tgatgataat ggattgaacc tctgaacctg tcagccagac 4320  
ccaattaaat gttgtccttg ataagatttg ccttgggtcat ggtatctgtt cacagtggta 4380  
aaaccctaac taagacagta tgacacatga gacacaaaaa aactggaacc ctttctttct 4440  
tttctttgca agcgtcaatt ggctgaagtt ggcctaaaac tctctaagta gatgagtgtc 4500  
cttgactcca ccttcgaaag tgcttgggct aaaggcatgt accatgatac tgctttatgt 4560  
ggtagtgggg tatcaacca tagccttact catgttaggc aagcactctg agctgcatcc 4620  
ccatccaagg gttggctttt tagtggtgaa aagcccgta actcttcttc gctttgggtcc 4680  
tgactcttgt gctcccttca ctccagcgga accctcccag cctcccaacg gcagctggcc 4740  
cccgagtctg cgagagagtg atgtgaaac cgccccgtg gccagcctca ccttctcttc 4800  
ctactaccag cactcctctc cgggtggccgc catgttcac gccgcctacg cgctcatctt 4860  
cctcctctgc atggtgggca acaccctggt ctgcttcac gtgcttaaga accggcacat 4920  
gcgcactgtc accaactgt tcacctcaa cctggccgtc agcgacctgc tgggtggcat 4980  
cttctgcatg ccacaaccc tegtggacaa cttatcacc ggtgagtatg accaaggggc 5040  
agcaggaagg ccctcttcac ccttcgcttc gttccactt tccagctaaa gactgacgcg 5100  
gaagccggga agacagagat cactgagcct cacagacaag gggcccgtg tctcaaactc 5160  
tgacagagag gtgaataaga ataaccaacc taatgggcta atcagtgcc ggcatgatgt 5220  
atgatttgta agttatctta attaatccct agaataagcc aaccaagcat gctttgttat 5280  
ttagcctcat ttacggatg aggaatcaag ctgagagcag ttaaggggt gatctgtaat 5340  
tatttacctt gtcagtgtca gggccagtgt gtcataccc ctgtgtctat tcatatctcc 5400  
tttggccaca cccttgaga gattcccat ggacagaatt agacagggga ggagtaggag 5460  
gtgggcaact ttcttctgca cgaagacctg gaaatccact cctgccatcc atcctcccat 5520  
agaagatgct ctgtcctgc aggtcttgag ctccattgg ctggaagact caggagtagg 5580  
gactggctga ccgatgagct gggactgggt aagaggtctt taaatggaag tagaccatca 5640  
cctgcaaagt ccacagttg tcagaatgtc acacactcat ctctgatgat aaacctgtct 5700  
tgtcttaaca tcagagtttg gagactcaag ctgtggagac ccttcaggtc taagggggaa 5760  
gatcccctgg ctacttgggg ttactcagct gttcctaggg agtccttctt ggtctgcgct 5820

ccctctttat agtggctctg atgacgcagg cccagggagg ggaagcctga ggggtgtgcag 5880  
gttcctggat cctaaaggga aatgatggag agtcttctgg ctgtatgcc ggtggagact 5940  
tgcctctctg ttgagttctg atccccgcag agatgccaaa cacaaaccgt acaaccttct 6000  
tccagcacc gcagacagtc tagatctaga tctggcctac aagtctcaa agggatattta 6060  
cagtataatc atttatgtga cattitcaaa ggccaaatcg tatittctgt cccctgagat 6120  
agcaaattga cagattcaag agatggaggg tgggtccggt aatgaaggac cgagtggag 6180  
cttcctggag tgatgcaata tttctgtatc ttgatggacg ctgcctggct gcatgtgtgc 6240  
cttaaacctg tgcacctgta tgccaaaaac agtggggctc attgtttgtc gaaaatagtt 6300  
ccagtgtgaa acatgcccat atgttagtcc atttccatgg ttggatatac atgatgggtg 6360  
tcaagatggc tgagcaggtg agtgactggt tgggtcccaa gtctctttcc ccgagcccca 6420  
taaagtagaa ggagaaggcc tactcctgca agttgtcctc tgacctctgt gcatgtatgc 6480  
atgtgcacac gagtgcactc acacacacac acacacacac aaatacacat gtgtatgtgt 6540  
gcatgcacac acatcaaagtg tgatTTTTTT tttaaaaaaa gagaagggt agagagatgg 6600  
ctcaggggtt aaagagatgg cccagtgggt agagagatgg cccagtgggt agagagatgg 6660  
ctcagtgggt agagagatgg cccagtgggt agagagatgg cccagtgggt agagagatgg 6720  
cccagtgggt agagagacag cccagtgggt agagagatgg ccaagtgggt acgagtgtgt 6780  
acggctcact agacgcactc tcagctccca cgctggttag cctacagatg actagctcca 6840  
gttcaggaga tccaacacct ctttcacgtg cacctgtgtt catgtgcaca cacctaaaca 6900  
cagagatgca gatttacaca tatagaaata cactaaaaat aaggtaatc tttttttaa 6960  
aagtcatgtg gcctcctaga agaacaactc tgtggctgta agggagtctt tgttggttagg 7020  
tactttttaa atgggagtgt ttgcctattc tagtatgcat gtatgtatgt gtgtatatat 7080  
ttattgtgta tgtatttgtg tgtatattta tttatttgggt tttttgagac aggtttctct 7140  
gtatagacct caagctagct ctgcagtctt gaactcagag atctggctgc ctctgcctcc 7200  
tgagtgtggt gattaaaggc gtggaccacc actgctctgc tattttttaa actttttatc 7260  
ttattttatg tgcatggaca ttttgcttaa tgtatacatg tgcaccccat gcgtctctgg 7320  
tgctgcaga gacttgaggg gggcatcaga ttccctcaa ctggagtgtg agatggttct 7380  
gagtcactga tgctaggaac caaacacagg tcctctgcaa gatcaacaag agctcttggc 7440  
cacggagcca tctccccagc cccttgaaac aatgttagac ttaaagtaaa atagcgaagc 7500



tagcatagaa tccttgcat atgctttgct ctccttcccc aacaatcata atagagtaaa 7560  
tacctggaga aagcttcccg tgtgttgata actcatcagg gttgggtggg cttttggttt 7620  
ttggttttgt ttgttttggt ctattttaaa tticactagt gtcccctaaa tgtcattttc 7680  
taggagtttg aaccataatt ccaagaaaca caactgaaat gctcaaactt tgaatgggtg 7740  
agccagggtg gataatctga atgaactcaa gaggccagcc tgggggttat gcagtgaaac 7800  
tgaatctcaa acagaaaaca agcatcaatc acaagggtcat gacaataaca gcaatggaac 7860  
aggccacttc agaggctgct ttaactataa agtaggcgac aatagcttgt attgctgcaa 7920  
gcataaacac tcagggtactc aaatgatatg tgtgtgagac gatcacaggc ctgaacgggtg 7980  
cattactgtt cataatgggt ctaaagtga ggttgggaat tgtatgcatt ccactttaga 8040  
actgtggatt cctggattgc catggatgtc ttggtcattg ttttcatgct ctgaagaggc 8100  
actgtgacta aggccactct tatgaaagaa agtatgtaat tgggctttgc ttacagtttc 8160  
agaggttagt ccattgtcat ggtgaccgaa ggcagggcag cacagaagtc agtaagatct 8220  
gcatcctgac ataggcagag agaggagaat tgggcctgtc ataggctttt taaaacctca 8280  
gagccactc cagtactca cttcctcaa caaagccatg cctcctaate cttctaate 8340  
tttcaaaggg tccatgctc aggtgactaa gcattccaat agatgagctt ctggggccat 8400  
tctttttctt ggggggaggg ggttttgaga cagggtttct ctgtgtagcc ctggttgca 8460  
ctcttttttt tttaaattaa tttatttatt tcatgtatgt gactacattg ttgctgtctt 8520  
cagacacatt agaagagggt attgaatccc cattacagat ggttgtgagc caccatgtgg 8580  
ttgcagggaa ttgaactcag gacctcaaga agaacagtca gtgctcttaa tcgctgagcc 8640  
atctctccag tccctggaac tcactttgta gaccaagctg acctcaaact cagaaatccg 8700  
cctgcttctg cctccaagt gctgggatta aaggcgtgct ccaccactgc ccagctctgg 8760  
gggggtcgtt cttattcaaa ccaccacact ggcagaaaac tcaaatcttg tgggggctag 8820  
ggtgactgtc agatattacc ctgtggttca agcaagtctg gaattggcta tgcaaccagg 8880  
ctagcctggc atgtgtgatt cttctcgcaa ctctgtcttc tgagccctgt ggtgccagct 8940  
gtgttctagc tcatctgatt ctttaagact ttgggtgggt ccacacaaac ctttgatagg 9000  
tcacttctat atagagttat agacagtggc cctgggggaa gattttgaga aattttgttt 9060  
cccgtaaagc cagacatcaa aaagatatca ctaaatttta tttatttatt tatttattta 9120  
tttatttatt tatttattta tttattttac agacacagat aaagtcagtg tggcaacagt 9180

gcacacactc ttggagccag atttacaaaa gaagatacat aaatcagaac tctctgaaag 9240  
tccgtgtata gtttatattg ccagtattca aaatgggtgt gaaaagtcaa atatccagca 9300  
ttaagaaaat ctacttttgg gggtagggca agaaaaaaaa aagaggaagg aaattgggct 9360  
ggctaggtct ggagagatgg agatggctca gcagctaaga attaagattc cttgcagag 9420  
gagccatgtt caatccccac atggcgatgt gttcaattgc acccatggat cacaacctgt 9480  
taacggtttc tagctccttc ttctgtccac tgcagggtact acatgcacat ggtacacata 9540  
catgcaggca aaacactcat aactaaatat agatttttta aaaagagggt gataatgtaa 9600  
aaatagttag aaggttttta aacttaaaaa aaagcaaaaa gttttaacat atgaaaatat 9660  
gaaaaagtgg tacttcaggg ttatatgtga agcagccaca cagagggtcat gcctaagggc 9720  
tggcaagccc cgccatcatc aaccatctgc tgactgtctt ggagtgcagt aaacagttag 9780  
aggcagatct tcctcgattt tccagcagcc actccatttt tgtttctcnn nnnnnnnnnn 9840  
nnnnncccc ccccccccc ccccccccc cnnnnnnnnn nnnnnnnnn ngtgctggga 9900  
attccagtac ctctgggtga gtagccagtg ctcttaacca ctgagccacc tctctagctc 9960  
cccttatttt caggttttta aatgacattt tattcttgct ctctctctc tctctctctc 10020  
tctctctctc tctctctctc tctttctctc tctctctctc ctctctctct ctgtgtctgt 10080  
atgtgtgtgt atctgttact ttgtggggca taggaatgca ttagcttaa catacatgta 10140  
gaagtcagag gacagcttat ggcgctatgc agtatagatt ctctctgct atgtgggtct 10200  
tggattgagc ttaggcttgt gacaagagct gacctgacc gccttgggtg agcctagagt 10260  
gaacttgaac tcctccacct ctggattatg gtaattacag gcccatgccc tacgcttca 10320  
tctcagcat gttctgtgtg ataggctctc ctgccttac ccactcaggc tcacagtctc 10380  
tcctgaagat atccttactg tcacaaccaa acaatgtct ttccagggtc ccagggtgctc 10440  
tgccttctg acgtggatac aggtctctg ggacagcctg gggcacactg atactcctc 10500  
cctggagcct tccatggaat ttgaagcttt cggttttgt ttttagggtt ttgatattta 10560  
ggagtttgtt acttgcgaaa cgttgctttg gggagcttag actcaatctt tctggtgttc 10620  
tggattctga ctagaaccac ttgtctcacc caatgtcaga cctagggtat ctagctgatt 10680  
ttaattattt ccttcttctt ttctggaccc cagtgtagg gattagaatt aggttcaac 10740  
catactttat cattaaacta cattctcagc catatgtatg tgtgtataca cacacacaca 10800  
cacatatatt tttttttttg aggtggcga gatagctcag tggtaagag catgtgtctc 10860

tcttgcagag gacctatgtt tggttcctag atccccacag atggcccaca ctatcagtga 10920  
actcagttgc agaggttctc aagtcctctc cagcgccgag ggctccaggc atgcatagag 10980  
tgcacacatg caggcaaaca ctcatacaca taaaataaaa tataaaaaaac cttattaact 11040  
tactcatgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgcgcgcgtg cgcacgcgta tgcgtggtgt 11100  
atttgagtgt ttatatgttc accatacatg ttaggtgcc tgtgaaggtc agaatacaat 11160  
cccatagtcc tggacttatt acagggtggt gtgagctgct gttgtggatg ctgagagttg 11220  
aatcccactc ctctgcagga gcaacaagtg ctcttaacca ctgagccatc tctccaaccc 11280  
cttggctctc ttttgatttt ttttttcttt gattttttga gacagggtct ctctgtgtag 11340  
cctggctgtc ctggaactca cttttagtag caggctggcc tcaaactcag gaaatccacc 11400  
tgccctgcc tcccagggtc tgggattaaa ggctgcacc accatgcccg gctctctttt 11460  
tgattttatt ttgtgtgtg atgcttatgc acgcacacat tcatgcatgc atgtatacat 11520  
ttttttcatg tatgtgtgag tgtatgcata ggtgcggagg cctgagggtg acatctcctg 11580  
ctttagcccc tgagtagctg ggatgacaag tctgtgcttc ccaggccagc tcaccgaagt 11640  
gtttccttag ctctctccaa tcagccctag gtgccaggtc atgacatcac atgtttagaa 11700  
gctgctcttc cattatttgc aatatgagca tttttgttgt tttctctgat gccaggacct 11760  
gcactttggc cctgggatcc ttgactaagg atgcctctg attagggcat ctgtaaagca 11820  
acctcttccc cttttcttta aaggacagat gtctgtacag taaagctggg atcagggttg 11880  
gttctctagc actacggatg cagagcagaa cctcaggag atgctctttt gatccagcac 11940  
tggagggtgt gtgtggaact tgtctcagac ggaggcctct acgggtgagc agtctcaggc 12000  
tgtaaacatc ctaaacatcc aggaaggagt tgctagtctt ttcatacatt ggtcagtcca 12060  
tcataaacac tctggaacca agcctagtgg cactcacgtt aaatcctagc acttgggagg 12120  
cagaggcaag cagatctcta agtctgaggc cagcctgtc tccagagtga gttccaggat 12180  
agccagggtc acacagagaa accctgtctc aaaaaaaaaa aaaacacaac aagaaaaaaaa 12240  
agggggggat catattctga ttctgtgagga atgtgtgtgc attcctcttg agcctggcca 12300  
atatgacatg gctttgcaa tgtctgttag gtccaagctt tggagcctgc acatggctat 12360  
gcccatttag gcaatattca ttactcaga acttactcc ctccgtgcg tcctctgctc 12420  
cctacacctt gattagattc agttgagcca ttgagggacg tcctctgctc cctacacctt 12480  
gattagattc agttgagcca ttgagggaga gcagcatgga tccgtgggca aggcacagat 12540

gagagccgag ccttttgctc gattgcttag gtaactgctg tctctaggct gtgaagccag 12600  
cacttcccc tttctaatta tgaagtaccc tacggggtga tcctctgaga ccatgcaaatt 12660  
gtcatggctc gttatatattt tgtaccgact tcatagtgtt gccaccaca aacttgcttc 12720  
tcctcctgtt ccctcttaatt gacattcaca tcctctgtat ttactaattg gctctctgct 12780  
tcctggcggt taatccaaca tgattgttta ttttgttgc taaactgctc taggtctggc 12840  
aattgcaatt ggaagctcac agccgctggc ttctgtgtcc ttcccatata cagccatcat 12900  
gtttggagta tttccttcct tcttcattcc acagaatgtt ctagatcatc tcacaatttt 12960  
cttacaccag ccctggaatt aactagttct tttaaaagcc ttgtttcctt tgattggcct 13020  
gcactattta gttctatttt atgcgcatgc gaattctact cgcattgctg gtgccacag 13080  
aggtcagaag agggcatcag agctcctgga gctagagagt tatggatgtt gaaagccacc 13140  
atacggatgc tggggactga accagagtc tctgcaagag caaccagttg tcttagctgc 13200  
tgagccatct ccacaggcca aggagtagag tatttacaag caaaggctc acttctgag 13260  
ggtgcttata agggtagag tggttgatt ctagactctg aaggacaga gctgggacat 13320  
gcatgcaaatt tgccatagag ttctttgaca catgtctttt gttgttggtt ttgagacagg 13380  
gtctcacatg tagccttggg ttccctggaa ctcactatgt aaccaggct gacctgaaac 13440  
tcaacagaga tctgtcttcc tctgtttccc aaatgctgag attaaagaca tgtatcacca 13500  
caccagctc cgtcttcgct cctgtgtctg gccatgtgcc tgtatttcag aaactgtgct 13560  
ccatactaatt acttcagatt ccaatccagt ctcagaaaat gtatttttagc tcctcccttt 13620  
ttttagctt tcttctcagt gagaacaaaa atctttgttt atccacagcc tgtttattta 13680  
tctgtttggt ccacttcagt atacaggtgt gataataata tatacgtgt ggatatgtga 13740  
taatgatgat tgggtaataa cagagctact tcgaggaagg aacggcctcc ctctgggct 13800  
ggataatagg ctccagacat caggcagggc tagatgacct gaaggtcatt gacacaatca 13860  
gctgtcaact aaaggccatc ttctaaaag tagtggtcac acgtgggtg gtcctcggt 13920  
cacagtcaca gagacctcac aagccctcac agcacgagga tcaatgagcg gtgtttccag 13980  
gagacattgg ttatatggca ggtgctatgc attttgttga ttaggcatct ctcaccctgt 14040  
gggggcctct gtcgttacag gttggccttt tgacaatgcc acatgcaaga tgagcggtt 14100  
ggtacagggc atgtccgtgt ctgcgtcggt tttcacactg gtggccattg ccgtggagag 14160  
gtgagaacct tccttgggta attctgggac tggcacgctg ggactagcta gatggttga 14220

gggagagatc ggttgagaat accaccccat ccctttctgg gaggcagagg ccactcctga 14280  
caagatctca tagcaatttc tggggtctgc tcaaggcagt ctgcatcctg ggtaccagga 14340  
gtcccacctc tcctttgttt gagcccgga agccagagct agaggagcct gtctgcagat 14400  
gggcttggca tagctgggaa ggaccgacct tttttgttct tatattctat ctacttgctg 14460  
gtgtctggaa gccctggctt tactccgtct gcatgtctgt cgtttctggt catccannnn 14520  
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnncc ccccccccc cccnnnnnnn 14580  
nnnnnnnnnn tgcctagtcc ggcttctctaa gcacagagtg tttatcacag actnnnnnnn 14640  
nngggctgtg atgcccgtca ctgaataaaa gaaaaaggaa taaaggaaag cccatgactg 14700  
ctccctggat atggtggagg agaaagctta ttatagatat gtgggtgaga acggccagag 14760  
gcagggacat ctccagagag tccagagtgg tcctgatcct gaacctcgtg gggagagggg 14820  
gagggggagg gagagcggga aaccaaaggt cagcagccat gaggcaaag gtgcaaaagg 14880  
aagtgggagg tagcccaaaa tgtctaggct atataggag gagcctctgt gggaagggca 14940  
gccagtgctc tgggctggag agttcagggt agagggtggg gtaggtcagc tatacccagt 15000  
aacaggtagc aaccgaggga tgctgggaga acctaaaggc caggtccgtt ttgatattgt 15060  
aaataggaac ctgagtggcc agtcctgggt tgaaccctta gtactgccag ctaatctgtt 15120  
ttaaaataaa gatctaagcc tctggagaga ggttgttctt tcctcatcta ttccactaaa 15180  
tccacctaaa gccataacaa tttagccgga ctgtgctgcc tccttcgcaa aagacaaacc 15240  
aatttacttg taaattaacc tgattagtgc cgaagcagtt ctcggtgct gcctaagtgc 15300  
agtgatgaat gtttggatc gtattccagt agcatccgaa actgcctcaa gtagggtgat 15360  
gaatgtcacg tgtcctcttc cagtggcccc tagtcaggct atctctggcc cgctgggcct 15420  
ccagggatcc tcccagacac ttactctgtt tctcttccca ccccttcgcc tgcaggttcc 15480  
gctgcatcgt acacctttc cgtgagaagc tgacctccg gaaggcgtg ctcaccatag 15540  
cggtgatctg ggcgctggcg ctgctcatca tgtgtccctc ggcggtcact ctgaccgtca 15600  
cgcgagagga gcatcacttc atgctggatg ctgcgaaccg ctctaccct ctctactcgt 15660  
gctgggaggc ctggcccgag aaggcatgc gcaaggtcta caccgccgtg ctcttcgcgc 15720  
acatctatct ggcgcgctg gcgctcatcg tggatgta egcgcgcatc gcgcgaagc 15780  
tgtgccaggc ccccggtcca gcgcgcgacg cggaggaggc ggtggccgag ggtggccgcg 15840  
cgtcgcgccg cagggccgcg gtggtgcata tgctggtcat ggtggcgctc ttcttcacct 15900

tgtcctggct gccactctgg gtgctgctgc tgctcatcga ctacggggag ctgagcgagc 15960  
tgcagctgca cttgctgtcc gtctacgcct tcccgttggc aacttggtg gccttcttcc 16020  
acagcagcgc caacccatt atctacggct acttcaacga gaacttccgc cgcggcttcc 16080  
aggctgcctt cggggcacag ctctgctggc ttccctgggc cggccacaag caagcctact 16140  
ccgagcggcc tggccgcctc ctgctcaggc ggggtggtgt ggacgtgcaa cccagcgact 16200  
cagggtgccc atcggagtct ggccccagca gtgggggtccc agggcctaac cggctgccat 16260  
tgcgcaatgg gcgtgtggcc caccaggatg gcccaggga agggcctggc tgcaaccaca 16320  
tgccctcac tatccagcc tggaacattt gaggtggtcc agagaggga cgtcctgtag 16380  
gcctgtggcc ctgacctta actatgatgc ctgggcacaa tagcagtatt agaagagggt 16440  
gccgagatgc ctccttgata aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa cgagacagtg 16500  
aggcattgag acccaggag aggtgacaag gtctcaccgt tgggaatcct acttgacca 16560  
gactccagta agtctccca ggaaaatgtg tcaatagggt gttaggaaga ggtgaccact 16620  
tctacacact gagcacctgt gaccgagtcc cctgtgctgt gttgctgaga gagtccccct 16680  
tggcccttcc ctgggaaaca tccaagctct ccgcttgcca gggccagtgt ttgagttgtt 16740  
ttattccagg aagtgccata cccacttcag catgtcaca ctgagcagct ccaagaagaa 16800  
ccctagggag cccattttaa tggcactggg ttgagcctaa gggagactcc ccccccccc 16860  
cccagagcca agcagagctt ccaacagtac caagagctca tgggtggcag gcaaggggaa 16920  
aaggaagaca gcaatgccaa ctctccctc aggaaatatc ttagtgggcc agtgagcatg 16980  
aacc 16984

<210> 29

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 29

agggtgctcag tgtgtagaag tgg

23

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 30

atcccagcct ggaacatttt gagg 24

<210> 31

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 31

tcatagccga atacggtctc cac 23

<210> 32

<211> 17833

<212> DNA

<213> Mouse

<220>

<221> CDS

<222> (4706).. (5021)

<220>

<221> CDS

<222> (14106).. (14205)

<220>

<221> CDS

<222> (16325).. (17198)

<400> 32

caagttgccg ggcttgggag gtggggaaga gacaggggag tggcagtgag tgaggtggga 60

gggagtgggt tttctttatt taaacgtgca cttgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg 120

tgtgtgtgat gtatatgtgt gtggagacgt gattaggata tgagtgaaga tcagagggca 180  
 gtctgtgtgt gggagtgggg tctctcctcc taccacgtag gtcccagga tcaaactcgg 240  
 gtcacaggc ttggtagaag gcatcttacc tgctgagcca tctcgatgac ctggtttggc 300  
 ttggcggaaa ggtctcatgt agttcaggtt ggcctcaaac tcagtatgtc accaagaatg 360  
 acctaaacc tctcatcctt ctgcctctgg agttctaggg gtatgggtgt accctagccc 420  
 ttggcttgca tgggtgctggg gttggagcct gtggctttgt ggatgttaag tcaagctcct 480  
 atcagctgag ccccatctct agctcctgga ctgtgagtta aaaaaaaaaa aagtagaaga 540  
 ctatttaaaa aaaaaaagat gcaaaactat ttttcagtga aaaggaatgt cggctgacac 600  
 tcgcttcaga gcaactgagg aggaaagtca atggatgctg caggtggacg gacttcccg 660  
 gggagtcctt tttaccattc catttctcat gtttcattaa actttatact tctgcatgtg 720  
 ttcgccaaaa taatctctct tgtacgtgcc cggatatata tatatattat tctattaaag 780  
 gtgtttgaat gctgttgagg ctcttgaaag gcctgtgtgt gggggagtac catcatctct 840  
 cagctccttc tctatcagta gaccctcat cccgccacac cctcctacag cccccactgg 900  
 ctctgcagc ccctaagtcc gctagtgcag tagcctgctg cccaggtgt ctgtctccag 960  
 ccctcctgtg tgtgcaactgc gcctcgtcgc ctcatittggc ttgcatgggt ctgggggttg 1020  
 agcctgtggc tttgtggatg ttaagtcaag ctctatcag ctgagcccca tctctagctc 1080  
 ctggactgtg agttaaaaa aaaaaaagta gaagactatt taataaaaaa aagatgcaaa 1140  
 actatttttc agtgaagagg aatgtcggct gacactcgtc tcagagcaac tgaggaggaa 1200  
 agtcaatgga tgctgcaggt ggacagactt cccgtgggag tcctttttac cattccattt 1260  
 ctcatggttc attaaacttt atacttctgc atgtgttcgc caaaataatc tctctgtac 1320  
 gtgcccgat atatatatat attattctat taaagggtgt tgaatgctgt tggagctctt 1380  
 gaaaggcctg tgtgtggggg agtaccatca tctctcagct ctttctctat cagtagacct 1440  
 ctcatccgc cacaccctcc tacagcccc actggctcct gcagcccta tgccgtagt 1500  
 gcagtagcct gctgccccag gtgtctgtct ccagccctcc tgtgtgtgca ctgcgcctcg 1560  
 ctcgctcata gccagtggct gagcgtggg ctccacagaa agactcccca gggccacttc 1620  
 atcctccaga atgggcccc tccagcccc gaggaagac atgaggggaa cttttaagac 1680  
 aacaccatga ctcaccaccg ctaatgactt cccagaagag ttatgattgg aactggact 1740  
 gctccctccg aaagaagact agggaaacac aactcagcc tgctgctaag gagaaacatg 1800



tggacagggc acttcccata gatactgcag gggcaggtaa acccagattg gtattcctgc 1860  
cagcaggggg tgcaaagaga aagaataggt tgctatgggt gcttgggagt tctagaagca 1920  
tgggctagag tgtcttgctt tgtttttctt tcctttcctt ttcttttctt ttcttttctt 1980  
ctttctctct ttctgtcttt aaaacttatt tatttaatgt atgtgagtac actgtagctg 2040  
tacccttcat gtggttggtt ggaattgaat tttaggacct ctgctcactc cagtcagccc 2100  
tgctcgctca ggaccaaaga tttattttatt attatacata agtacactgt agctgacttc 2160  
agacacacca ggagagggcg tcagatctca ttatgggtgg ttgtgagcca ccatgtgggt 2220  
gctgggactt gaactcagga cctctgggag agcagtcagt gctcttacct gctgagccat 2280  
ctcgccagcc ccttgcttca tttttctatt gctataacaa atatccaaga ttgagtagtt 2340  
tataagaagt ccaaaagcat ggcccttctg ttcagggcct gtttcctgca ttctaacatg 2400  
gtgagggcat cgtgtggcca actagaacaa gcacgtggcc tggcagagag gcctcggcca 2460  
tcgagtgcac ttgctctttg tgggtgatgga agtggttcca ttaggaggca tggccttggt 2520  
ggaggaagtg tgtcactgtg taggagggct ttgagggttc ctagtgtca agtgctacct 2580  
agtgcagaac actcagtcac tcctgggtgt cctatgatca agatctagaa ctctcagctt 2640  
cttctgcagc actgtgtctg tctgcatgct gccaggcttc ttgctatgat gataatggac 2700  
tgaacctctg aaactgtaag ccagccccaa ttaaagtgtt gcctttgtta gagtagcctt 2760  
ggtcatggtg cctgttcaca gcaatagaaa ccttaactaa gacacagttc ttgaagagga 2820  
tggagttcct agcaccatg gccagcaact caccataact cttgttccag ggaatctggt 2880  
gccctcttct ggcttttaag tgtatacaca cacaccacac acacacacac accacacaca 2940  
cacacacaca cacacacaca tacacaccac acacacacac acacaccaca gagagagaga 3000  
agcacaatag ctgaggattc ttcttatgta atcaccaatg atgtcacagg agctccacca 3060  
tgtaacttcc tataaatcta actctcttcg attttaataa ttactatat gtgggtgtgt 3120  
gtcagatctt ggattacaga cagtcatgac ctgccatgtg gatgctggga attgaacctg 3180  
gattgtgag ccatctctcc tgcctcctaa ctcaacttca gaagccgcag ttccaaatac 3240  
ctttgacaca tgctttgagg gaattaaagt gtctagacat gagggtagat tgaaggcaca 3300  
ataaggactc actctacagg acaagagctg tgtctgctaa cagtactggt cccaggcagg 3360  
aaggagacca ggaagcaaaa actgactcct ctcttgcttc ccacctcatt tagggcttcc 3420  
cattgactga gtctaaccag aagctggcag gatgggggtcc tttagaagtt agactcttgg 3480

gcccaggac atagctcagt tggatatagta cttgcctaac atgcacaaag ctocaggttc 3540  
tatcacatac agtgtacagg ttgacacact tcatctcagc actcagggtg tagaggcagg 3600  
agggtaaagag ttcagggccca tccttagcta aagtggtag ttcaaggcca gcctgatatg 3660  
gaagaccttg tcaccaaga agtcttctga gacccaaaag atgacatgaa gcacaggagg 3720  
aagggtgga tggagactag ccaatgtgat tggaggatga gggcccagca cattgggtgt 3780  
gaggtttggg caaactcaaa agtccttgat cagaggacgg aggggtggtta aatgggtcaag 3840  
aatgcttggt cttccagagg accctgatct ggctcctagc accctcattg tgaccacaa 3900  
aacatccata actctagtgc tagggcactc agcacacaca ccatgcacat acacgtgtgc 3960  
aggcaaaaca ttcaaaaatc taaaaattaa aaaataaaat aaaataaaat tcttgacagt 4020  
gtgcccagtt gtccttgaga cagtggacag taataagtgg gcttagggta tatgtgatgg 4080  
tttgtatatg cttgctcaga gagtagcact attaggaggt gtggtcttgt gggagtaggt 4140  
gtgtcactgt ggggtgtgagc ttaagagcct catcctagct ccctggaagc cagtctctc 4200  
ctagcagtct tcagatgaag atgcagaact ctcagctcct cctacaccat gtctgcctgg 4260  
atgtgtctat gctccacct tgatgataat ggattgaacc tctgaacctg tcagccagac 4320  
ccaattaaat gttgtccttg ataagatttg ccttggtcat ggtatctgtt cacagtggta 4380  
aaaccctaac taagacagta tgacacatga gacacaaaaa aactggaacc ctttctttct 4440  
tttctttgca agcgtcaatt ggctgaagtt ggctaaaaac tctctaagta gatgagtgtc 4500  
cttgactcca ccttcgaaag tgcttgggct aaaggcatgt accatgatac tgctttatgt 4560  
ggtactgggg tatcaacca tagccttact catgttaggc aagcactctg agctgcatcc 4620  
ccatccaagg gttggctttt tagtggtaga aagcccgtta actcttcttc gctttgggtcc 4680  
tgactcttgt gctcccttca ctccagcgga accctcccag cctcccaacg gcagctggcc 4740  
cccgagtctg cgagagagt atgctgaaac cgccccggtg gccagcctca ctttctcttc 4800  
ctactaccag cactcctctc cgggtggcgc catgttcac gccgcctacg cgctcatctt 4860  
cctcctctgc atggtgggca acaccctggc ctgcttcac gtgcttaaga accggcacat 4920  
gcgcactgtc accaacaatg tcatcctcaa cctggccgtc agcgacctgc tgggtggcat 4980  
cttctgcatg ccacaaccc tctgggacaa ccttatcacc ggtgagtatg accaaggggc 5040  
agcaggaagg ccctcttcac ccttcgcttc gcttccactt tccagctaaa gactgacgg 5100  
gaagccggga agacagagat cactgagcct cacagacaag gggcccgttg tctcaaactc 5160

tgacagagag gtgaataaga ataaccaacc taatgggcta atcagtgcca ggcagatgt 5220  
atgatttgta agttatctta attaatccct agaataagcc aaccaagcat gctttgttat 5280  
ttagcctcat ttacggatg aggaatcaag ctacagagcag ttaaggggct gatctgtaat 5340  
tatttacctt gtcagtgca gggccagtgt gtcataccc ctgtgtctat tcatatctcc 5400  
tttggccaca cccttgaga gagttcccat ggacagaatt agacagggga ggagtaggag 5460  
gtgggcaact ttcttctgca cgaagacctg gaaatccact cctgccatcc atcctcccat 5520  
agaagatgct cttgtcctgc aggtcttgag ctccattgg ctggaagact caggagtagg 5580  
gactggctga ccgatgagct gggactgggt aagaggtctt taaatggaag tagaccatca 5640  
cctgcaaagt ccacagttg tcagaatgtc acacactcat ctctgatgat aaacctgtct 5700  
tgtcttaaca tcagagtttg gagactcaag ctgtggagac ccttcaggtc taagggggaa 5760  
gatccctgg ctacttgggg ttactcagct gttcctaggg agtccttctt ggtctgcgct 5820  
ccctctttat agtggctctg atgacgcagg ccagggagg ggaagcctga ggggtgtcag 5880  
gttcctggat cctaaaggga aatgatggag agtcttctgg ctgtatgcc ggtggagact 5940  
tgcctctctg ttgagttctg atccccgcag agatgccaaa cacaaccgt acaaccttct 6000  
tccagcacc gcagacagtc tagatctaga tctggcctac aagtctcaa aggtatttta 6060  
cagtataatc atttatgtga cattttcaaa ggccaaatcg tattttctgt cccctgagat 6120  
agcaaattga cagattcaag agatggaggg tgggtccggt aatgaaggac cgagtgaag 6180  
cttctggag tgatgcaata tttctgtatc ttgatggacg ctgcctggct gcatgtgtgc 6240  
cttaaacctg tgcacctgta tgccaaaaac agtggggctc attgtttgtc gaaaatagtt 6300  
ccagtgtgaa acatgccc atgttagtcc atttccatgg ttggatatac atgatgggtg 6360  
tcaagatggc tgagcaggtg agtgactggt tgggtcccaa gtctctttcc ccagcccca 6420  
taaagtagaa ggagaaggcc tactcctgca agttgtctc tgacctctgt gcatgtatgc 6480  
atgtgcacac gagtgcactc acacacacac acacacacac aaatacacat gtgtatgtgt 6540  
gcatgcacac acatcaaag tgattttttt tttaaaaaaa gagaagggt agagagatgg 6600  
ctcaggggtt aaagagatgg ccagtggtt agagagatgg ccagtggtt agagagatgg 6660  
ctcagtggtt agagagatgg ccagtggtt agagagatgg ccagtggtt agagagatgg 6720  
ccagtggtt agagagacag ccagtggtt agagagatgg ccaagtgtt acgagtgtgt 6780  
acggctcact agacgcactc tcagctccca cgctggttag cctacagatg actagctcca 6840

gttcaggaga tccaacacct ctttcacgtg cacctgtgtt catgtgcaca cacctaaaca 6900  
cagagatgca gatttacaca tatagaaata cactaaaaat aaggttatc tttttttaa 6960  
aagtcattgt gcctcctaga agaacaactc tgttgctgta agggagtctt tgttgtagg 7020  
tactttttaa atgggagtgt ttgcctattc tagtatgcat gtatgtatgt gtgtatatat 7080  
ttattgtgta tgtatttgtg tgtatatatta tttatttgggt tttttgagac aggtttctct 7140  
gtatagacct caagctagct ctgcagtctt gaactcagag atctggctgc ctctgcctcc 7200  
tgagtgtctg gattaaaggc gtggaccacc actgctctgc tttttttaa actttttatc 7260  
ttattttatg tgcattggaca ttttgcttaa tgtatacatg tgcaccccat gcgtctctgg 7320  
tgcttcgaga gacttgaggg gggcatcaga ttccctcaa ctggagtgt agatggttct 7380  
gagtcactga tgctaggaac caaacacagg tcctctgcaa gatcaacaag agctcttggc 7440  
cacggagcca tctcccagc cccttgaaac aatgttagac ttaaagtaa atagcgaagc 7500  
tagcatagaa tccttggcat atgctttgct ctcttcccc aacaatcata atagagtaa 7560  
tacctggaga aagcttcccg tgtgttgata actcatcagg gttgggtggt cttttggtt 7620  
ttggttttgt ttgttttgggt ctatttttaa tttcactagt gtcccctaaa tgtcatttc 7680  
taggagtgtg aaccataatt ccaagaaaca caactgaaat gctcaaactt tgaatggtgg 7740  
agccagggtg gataatctga atgaactcaa gaggccagcc tgggggttat gcagtgaac 7800  
tgaatctcaa acagaaaaca agcatcaatc acaaggcat gacaataaca gcaatggaac 7860  
aggccacttc agaggctgct ttaactataa agtaggcgac aatagcttgt attgctgcaa 7920  
gcataaacac tcagggtactc aaatgatatg tgttgtagac gatcacaggt ctgaacggtg 7980  
cattactgtt cataatgggt ctaaagtga ggttggaat tgtatgcatt ccactttaga 8040  
actgtggatt cctggattgc catggatgtc ttggtcattg tttcatgct ctgaagaggc 8100  
actgtgacta aggccactct tatgaaagaa agtatgtaat tgggctttgc ttacagtctc 8160  
agaggttagt ccattgtcat ggtgaccgaa ggcagggcag cacagaagtc agtaagatct 8220  
gcatcctgac ataggcagag agaggagaat tgggcctgtc ataggctttt taaaacctca 8280  
gagccactc cagtactca cttcctcaa caaagccatg cctcctaact cttctaactc 8340  
tttcaaaggg tccatgctc aggtgactaa gcattccaat agatgagctt ctggggccat 8400  
tcttttctt ggggggaggg ggttttgaga cagggttct ctgtgtagcc ctggtgtca 8460  
ctctttttt tttaaattaa tttatttatt tcatgtatgt gactacattg ttgctgtctt 8520

cagacacatt agaagagggg attgaatccc cattacagat ggttgtgagc caccatgtgg 8580  
ttgcagggaa ttgaactcag gacctcaaga agaacagtca gtgctcttaa tcgctgagcc 8640  
atctctccag tccctggaac tcactttgta gaccaagctg acctcaaact cagaaatccg 8700  
cctgcttctg cctcccaagt gctgggatta aaggcgtgct ccaccactgc ccagctctgg 8760  
gggggtcgtt cttattcaaa ccaccacact ggcagaaaac tcaaatcttg tgggggctag 8820  
ggtgactgtc agatattacc ctgtggttca agcaagtctg gaattggcta tgcaaccagg 8880  
ctagcctggc atgtgtgatt cttctcgcaa ctctgtcttc tgagccctgt ggtgccagct 8940  
gtgttctagc tcatctgatt ctttaagacgt ttgggtgggct ccaccaaacc ctttgatagg 9000  
tcacttctat atagagttat agacagtggc cctgggggaa gattttgaga aattttgttt 9060  
cccgtaaatg cagacatcaa aaagatatca ctaaatttta tttatttatt tatttattta 9120  
tttatttatt tatttattta tttattttac agacacagat aaagtcagtg tggcaacagt 9180  
gcacacactc ttggagccag atttacaata gaagatacat aaatcagaac tctctgaaag 9240  
tccgtgtata gtttatattg ccagtattca aaatgggtgt gaaaagtcaa atatccagca 9300  
ttaagaaaat cttacttttg ggggtgggca agaaaaaaa aagaggaagg aaattgggct 9360  
ggctaggtct ggagagatgg agatgggtca gcagctaaga attaagattc ccttgagag 9420  
gagccatgtt caatccccac atggcgatgt gttcaattgc acccatggat cacaacctgt 9480  
taacggtttc tagctccttc ttctgtccac tgcaggtact acatgcacat ggtacacata 9540  
catgcaggca aaacactcat aactaaatat agatttttta aaaagagggt gataatgtaa 9600  
aaatagttag aaggttttaa aacttaaaaa aaagcaaaaa gttttaacat atgaaaatat 9660  
gaaaagtgg tacttcaggg ttatattgta agcagccaca cagaggtcat gcctaagggc 9720  
tggcaagccc cgccatcatc aaccatctgc tgactgtctt ggagtgcagt aaacagttag 9780  
aggcagatct tctctgattt tccagcagcc actccatttt tgtttctcct atttttaatg 9840  
tttaacgggt tattttattg tatttacaag cgctgtatct gcatgtacac ctgcatgcca 9900  
gaagagggca tcagatccca ttacagatgg ttgtgggtgc tgggaattcc agtacctctg 9960  
ggtgagtagc cagtgtcttt aaccactgag ccacctctct agtccccctt attttcaggt 10020  
tttaaatga cattttattc ttgtctctt ctctctctct ctctctctct ctctctctct 10080  
ctctctcttt ctctctctct cctctctctc tctctctgtg tctgtatgtg tgtgtatctg 10140  
ttactttgtg gggcatagga atgcatgtag cttaacatac atgtagaagt cagaggacag 10200

cttatggcgc tatgcagtat agattctctt ctgctatgtg ggtcttggat tgagcttagg 10260  
cttgtgacaa gagctgacct tgaccgcctt ggtgtagcct agagtgaact tgaactcctc 10320  
cacctctgga ttatggtaat tacaggccca tgccctacgc ttcactctca cgcatgttct 10380  
gtgtgatagg tcttcctcgc cttaccact caggctcaca gtctctcctg aagatatacct 10440  
tactgtcaca accaaaacaa tgtctttcca ggttcccagg tgctctgcct tctgacgtg 10500  
gatacaggtc tcctgggaca gcctggggca cactgatact ccttccctgg agccttccat 10560  
ggaatttgaa gctttcggct ttggttttta gggttttgat atttaggagt ttggtacttg 10620  
cgaaacgttg ctttggggag cttagactca atctttctgg tgttctggat tctgactaga 10680  
accacttgtc tcaccaatg tcagacctag ggtatctagc tgattttaat tatttccttc 10740  
cttctttctg gaccccagtg ctagggatta gaattaggct tcaaccatac ttatcatta 10800  
aactacattc tcagccatat gtatgtgtgt atacacacac acacacacat atattttttt 10860  
ttttgaggct ggcgagatag ctgagtgtt aagagcatgt gctgctcttg cagaggaccc 10920  
atgtttgggt cctagatccc acacgatggc ccacactatc agtgaactca gttgcagagg 10980  
ttctcaagtc ctctccagcg ccgagggtc caggcatgca tagagtgcac acatgcaggc 11040  
aaacactcat acacataaaa taaaatataa aaaaccttat taacttactc atgtgtgtgt 11100  
gtgtgtgtgt gtgtgtgccc gcgtgcgcac gcgtatgcgt ggtgtatttg agtgtttata 11160  
tggtcaccat acatgtgtag gtgcctgtga aggtcagaat caaatcccat agtcctggac 11220  
ttattacagg tggttgtag ctgctgtgtt ggatgctgag agttgaatcc cactcctctg 11280  
caggagcaac aagtgtctt aaccactgag ccactctctc aaccttgg tctctttttg 11340  
atttttttt tctttgattt tttagacag ggtctctctg ttagcctgg ctgtcctgga 11400  
actcactttg tagaccaggc tggcctcaaa ctgaggaaat ccacctgcct ctgcctccca 11460  
ggtgctggga ttaaaggcgt gcaccacat gccggctct ctttttgatt ttattttgtg 11520  
tgtggatgct tatgcacgca cacattcatg catgcatgta tacatttttt tcatgtatgt 11580  
gtgagtgtat gcataggtgc ggaggcctga ggttgacatc tcctgcttta gccctgagt 11640  
agctgggatg acaagtctgt gcttcccagg ccagctcacc gaagtgtttc cttagctctc 11700  
tccaatcagc cctaggtgcc aggtcatgac atcacatgtt tagaagctgc tcttccatta 11760  
tttgcaatat gagcattttt gttgttttct ctgatgccag gacctgcact ttggccctgg 11820  
gatccttgac taaggatgcc tcgtgattag ggcatctgta aagcaacctc ttccccctt 11880

ctttaagga cagatgttcg tacagtaaag ctgggatcag gttgggttct ctagcactac 11940  
ggatgcagag cagaacctca gggagatgct cttttgatcc agcactggag ggtgtgtgtg 12000  
gaacttgtct cagacggagg cctctacggg tgagcagtct caggctgtaa acatcctaaa 12060  
catccaggaa ggagttgcta gtcttttcat acattggta gtccatcata aacactctgg 12120  
aaccaagcct agtggcactc acgttaaatic ctagcacttg ggaggcagag gcaagcagat 12180  
ctctaagtct gaggccagcc tggctccag agtgagttcc aggatagcca gggctacaca 12240  
gagaaaccct gtctcaaaaa aaaaaaaaaac acaacaagaa aaaaaagggg gggatcatat 12300  
tctgattcgt gaggaatgtg ctggcattcc tcttgagcct ggccaatatg acatggcttt 12360  
gccaatgtcc tgtaggtcca agctttggag cctgcacatg gctatgccc ttaggcaat 12420  
attcatttac tcagaacttc actccctccc gtgcgtcctc tgctccctac accttgatta 12480  
gattcagttg agccattgag ggacgtcctc tgctccctac accttgatta gattcagttg 12540  
agccattgag ggagagcagc atggatccgt gggcaaggca cagatgagag ccgagccttt 12600  
tgctcgattg cttaggtaac tgctgtctct aggctgtgaa gccagcactt ccccttttct 12660  
aattatgaag taccctacgg ggtgatcctc tgagaccatg caaatgtcat ggctcgttat 12720  
atttttgtac cgacttcata gtgttgccac ccacaacact gcttctcctc ctgttcctc 12780  
ttaatgacat tcacatcctc tgtatttact aattggctct ctgcttcctg gcgtttaatc 12840  
caacatgatt gtttattttg ttgcttaaac tgctctaggt ctggcaattg caattggaag 12900  
ctcacagccg ctggcttctg tgccttccc atatacagcc atcatgtttg gattatttcc 12960  
ttccttcttc attccacaga atgttctaga tcattctaca attttcttac accagccctg 13020  
gaattaacta gttcttttaa aagccttggt tcctttgatt ggctgcact atttagttct 13080  
attttatgcg catgcgaatt ctactcgcat gcctgggtgcc cacagaggtc agaagagggc 13140  
atcagagctc ctggagctag agagttatgg atgttgaaag ccaccatacg gatgctgggg 13200  
actgaaccag agtcctctgc aagagcaacc agttgtctta gctgctgagc catctccaca 13260  
ggccaaggag tagagtattt acaagcaaag gtctgacttc ctgagggtgc ttatcagggt 13320  
tagagtggct tgattctaga ctctgaaggg acagagctgg gacatgcatg caaattgcc 13380  
tagatttctt tgacacatgt cttttgttgt tgtgttgag acagggtctc acatgtagcc 13440  
ttggtttccc tggaactcac tatgtaaccc aggtgacct gaaactcaac agagatctgt 13500  
cttctctgt ttcccaaatg ctgagattaa agacatgtat caccacaccc agtccgtct 13560

tcgctcctgt gtctggccat gtgcctgtat ttcagaaact gtgctccata ctaatacttc 13620  
agattccaat ccagtctcag aaaatgtatt ttagctcctc ccttttttgt agctttcttc 13680  
tcagtgagaa caaaaatctt tgtttatcca cagcctgttt atttatctgt ttggtccact 13740  
tcagtataca ggtgtgataa taatatatac gctgtggata tgtgataatg atgattgggt 13800  
aataacagag ctacttcgag gaaggaacgg cctccctcct gggctggata ataggctcca 13860  
gacatcaggc agggttagat gacctgaagg tcattgacac aatcagctgt caactaaagg 13920  
ccatcttcct aaaagtagtg ttcacacgct ggttggtcc tcggtcacag tcacagagac 13980  
ctcacaagcc ctcacagcac gaggatcaat gagcgggtgt tccaggagac attggttata 14040  
tggcagggtgc tatgcatttt gttgattagg catctctcac cctgtggggg cctctgtcgt 14100  
tacaggttgg ccttttgaca atgccacatg caagatgagc ggcttggtac agggcatgtc 14160  
cgtgtctgcg tcggttttca cactgggtggc cattgccgtg gagaggtgag aaccttcctt 14220  
gggtaattct gggactggca cgctgggact agctagatgg ttgtaggagg agatcggttg 14280  
agaataccac cccatccctt tctgggaggc agaggccact cctgacaaga tctcatagca 14340  
atttctgggg tctgctcaag gcagtctgca tcctgggtac caggagtccc acctctcctt 14400  
tgtttgagcc cggaagcca gagctagagg agcctgtctg cagatgggct tggcatagct 14460  
gggaaggacc gacctttttt gtttctatat tctatctact tgctggtgtc tggaagccct 14520  
ggctttactc cgtctgcatg tctgtcgtt ctggtcatcc agcctttgcc tccagcagag 14580  
gctagagtaa gaatcactct ggatgacaaa tggttctgta cgtgtggcca aggtgagctt 14640  
aagctttcct tcccagaaca cacagatgtg accccacccc tgctcctcat taagtagctc 14700  
agtatggcaa ggatggctca gtggttaaga gcacaggctg ttcttcaga ggtcctgagt 14760  
tcaattccca gcaaccacat ggtggctcac agccatcttt agtgagaagc tggcgccctc 14820  
ttctggtctt cagtcgtaca tgcaggagac tgttgtttag ctatgagaca cagagagaga 14880  
gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga acagggcaca 14940  
gttgtgtgac tgtggtatct ctgaccagag agtagaaatg cttgtggttt acaaaccag 15000  
aacagtgcag gttggcaaaa gtttctgcac gtattgtaaa tgcctgggac ttggctgacc 15060  
tcagttttag ccggaaggca gtctggatct agcaaatagt tcttctccaa tcattggggc 15120  
gggggggggg ggggagcgga ggggggggct gtcaataggc tccaccactg atccactccc 15180  
cagtcccagc tcctgagggt ttcagggagt ctataaacag ctaaaagtta cacctgttac 15240



atttgtgatg cgctgggtcaa gtggctcagt ggatcaaggt atggtcacca agcctcttga 15300  
cctgaattcc attgctagga ccacatggta gaaagagatt gctgactgct gcagttgtct 15360  
tttgtgtgga gaggagagaaa aggctaagt aaggagagg gagaacgaag cactaatacg 15420  
tgtttttttaa aaaaagcggt tgtatatttg cctagtccgg cttcctaagc acagagtgtt 15480  
tatcacagac tgggctgtga tgcccgtac tgaataaaag aaaaaggaat aaaggaaagc 15540  
ccatgactgc tccctggata tgggtggagga gaaagcttat tatagatatg tgggtgagaa 15600  
cggccagagg caggacatc tccagagagt ccagagtggc cctgatcctg aacctcggtg 15660  
ggagaggggg aggggaggg agagcggga accaaaggct agcagccatg aggccaaagg 15720  
tgcaaaagga agtgggaggt agcccaaat gtctaggcta tatagggagg agcctctgtg 15780  
ggaagggcag ccagtgctt gggctggaga gttcagggtg gagggtggg taggtcagct 15840  
ataccagta acaggtagca accgagggat gctgggagaa cctaaaggcc aggtccgctt 15900  
tgatatggtg aataggaacc tcagtggcca gtcctgggtt gaacccttag tactgccagc 15960  
taatctgttt taaaataaag atctaagcct ctggagagag gttgttcctt cctcatctat 16020  
tccactaaat ccacctaaag ccataacaat ttagccggac tgtgctgcct ccttcgcaa 16080  
agacaaacca atttacttgt aaattaacct gattagtgc gaagcagttc tcgggtgctg 16140  
cctaagtga gtgatgaatg tttggtatcg tattccagta gcatccgaaa ctgcctcaag 16200  
tagggatgat aatgtcacgt gtcctcttcc agtggccct agtcaggta tctctggccc 16260  
gctgggcctc caggatcct ccagacact tactctgtt ctcttccac cccttcgct 16320  
gcaggttcg ctgcatcgt cacccttcc gtgagaagct gacctccg aaggcgctgc 16380  
tcaccatagc ggtgatctgg gcgtgggc tgctcatcat gtgtccctcg gcggtcactc 16440  
tgaccgtcac gcgagaggag catcacttca tgctggatgc tcgcaaccgc tcctaccctc 16500  
tctactcgtg ctgggaggcc tggccgaga agggcatgc caaggtctac accgccgtgc 16560  
tcttcgca catctatctg gcgcgctgg cgtcatcgt ggtgatgtac gcgcgcatc 16620  
cgcgcaagct gtgccaggcc ccggtccag cgcgcgacgc ggaggaggcg gtggccgagg 16680  
gtggccgcgc gtcgcgccgc agggcccgcg tgggtcatat gctggcatg gtggcgctct 16740  
tcttcacctt gtcctggctg ccactctggg tgctgtgct gctcatcgac tacggggagc 16800  
tgagcgagct gcagctgcac ttgtgtccg tctacgctt ccgttggca cactggctgg 16860  
ccttcttcca cagcagcgcc aacccatta tctacggcta cttcaacgag aacttcgcc 16920

gaggcttcca ggctgccttc cgggcacagc tctgctggct tccctgggcc gccacaagc 16980  
aagcctactc cgagcggcct ggccgcctcc tgcgcaggcg ggtggtgggtg gacgtgcaac 17040  
ccagcgactc agggctgcca tcggagtctg gccccagcag tgggggtccca gggcctaacc 17100  
ggctgccatt gcgcaatggg cgtgtggccc accaggatgg cccgagggaa gggcctggct 17160  
gcaaccacat gcccctcact atcccagcct ggaacatttg aggtggtcca gagagggaac 17220  
gtcctgtagg cctgtggccc tgaccttaa ctatgatgcc tgggcacaat agcagtatta 17280  
gaagagggtg ccgagatgcc tccttgataa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 17340  
gagacagtga ggcattgaga ccagaggaga ggtgacaagg tctcacggtt gggaatccta 17400  
cttgaccag actccagtaa gtctcccag gaaaatgtgt cactagggtg ttaggaagag 17460  
gtgaccactt ctacacactg agcacctgtg accgagtccc ctgtgctgtg ttgctgagag 17520  
agctccctt ggccctttcc tgggaaacat ccaagctctc cgcttgccag ggccagtgtt 17580  
tgagttgttt tattccagga agtgccatac ccacttcagc atgtcacaac tgagcagctc 17640  
caagaagaac cctagggagc ccatttaa atggcactgggt tgagcctaag ggagactccc 17700  
ccccccccc ccagagccaa gcagagcttc caacagtacc aagagctcat ggggtggcagg 17760  
caaggggaaa aggaagacag caatgccaac tctcccctca ggaaatatct tagtgggcca 17820  
gtgagcatga acc 17833

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/27, 31/7088, 39/395, 45/00, 48/00, A61P3/04,  
5/00, 5/38, 7/00, 9/00, 13/12, 15/00, 21/00, 21/04, 25/00,  
25/02, 25/08, 25/14, 25/18, 25/20, 25/24, 27/02, 37/00,

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/00-58, A61P21/00, 21/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2003  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2003 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), BIOSIS (STN), REGISTRY (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/66134 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.), 13 September, 2001 (13.09.01), Full text; particularly, Claim 1 & EP 1262190 A1	1-12, 27, 28, 55, 56
A	EP 1132405 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.), 12 September, 2001 (12.09.01), Full text; particularly, Par. Nos. [0181], [0182] & WO 00/29441 A	1-12, 27, 28, 55, 56
A	UKENA, Kazuyoshi et al., Distribution of novel Rfamide-related peptide-like immunoreactivity in the mouse central nervous system, Neuroscience Letters, 2001, Vol.300, No.3, pages 153 to 156; full text	1-12, 27, 28, 55, 56

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
"E" earlier document but published on or after the international filing date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
10 September, 2003 (10.09.03)

Date of mailing of the international search report  
25 November, 2003 (25.11.03)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	UKENA, Kazuyoshi et al., A novel rat hypothalamic RFamide-related peptide identified by immunoaffinity chromatography and mass spectrometry, FEBS Letters, 2002 February, Vol.512, No.1-3, pages 255 to 258; full text	1-12, 27, 28, 55, 56

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP03/10078

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 25, 26

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 25 and 26 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
(See extra sheet.)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

In the inventions according to claims 1 to 12, 27, 28, 55 and 56 of the present case, the relationship between the peptide represented by SEQ ID NO:1 and the use thereof described first in the claims, i.e., "myopathy" and "muscular depression".

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

## Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

Claims 1 to 12, 27, 28, 55 and 56 (number of inventions:8)

It is recognized that the invention according to claim 1 of the present case relates to "a preventive, a remedy or an improving agent for myopathy, adrenal dysfunction, twitching, aggressive behaviors, gait abnormality, body temperature rise, leukopenia, thrombopenia, increase in voluntary behaviors or muscular depression - - - containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1" and it is recognized that the part common to the remedies for the respective uses cited as alternatives in the claim resides in "a remedy - - - containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1".

As described in claim 1 of the following document 1, "a remedy containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1" had been publicly known. Thus, the above constitution cannot be considered as the gist of the invention because of not being a novel matter.

Also, it cannot be considered that they have any common problem that had remained unsolved until the application of the present case.

The same applies to claims 2 to 12, 27, 28, 55 and 56.

Such being the case, the 8 inventions described as alternatives in claims 1 to 12, 27, 28, 55 and 56, i.e., remedies to be applied respectively for "myopathy", "adrenal dysfunction", "twitching", "aggressive behaviors", "gait abnormality", "body temperature rise", "leukopenia" and "increase in voluntary behaviors" are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

(In counting the inventions, the combinations of "leukopenia" with "thrombopenia", and "myopathy" with "muscular depression" are each considered as a single invention.)

Claims 13 to 24, 27, 28, 55 and 56 (number of inventions:8)

It is recognized that the matter common to "a preventive, a remedy or an improving agent" having respective uses as described in the alternative form in claim 13 resides in "a remedy - - - containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:11".

As described in the following document 2, "a receptor protein OT7T022 having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:11 is useful in treating cystic macular edema" (p.49, lines 23-25). Thus, the above constitution cannot be considered as the gist of the invention because of not being a novel matter.

Also, it cannot be considered that they have any common problem that had remained unsolved until the application of the present case.

The same applies to claims 14 to 24, 27, 28, 55 and 56.

Such being the case, the 8 inventions described as alternatives in claims 14 to 24, 27, 28, 55 and 56 and having different uses are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. (In counting the inventions, the combinations of "leukopenia" with "thrombopenia", and "myopathy" with "muscular depression" are each considered as a single invention.)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP03/10078

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

The matter common to the invention according to claim 1 of the present case and the invention according to claim 13 resides in that "a preventive, a remedy or an improving agent for myopathy, adrenal dysfunction, twitching, aggressive behaviors, gait abnormality, body temperature rise, leukopenia, thrombopenia, increase in voluntary behaviors or muscular depression". However, remedies for myopathy and twitching had been well known by those skilled in the field of medicine prior to the application of the present case. Thus, the invention according to claim 13 and the invention according to claim 1 are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. The same applies to claims 14 to 24, 27, 28, 55 and 56.

Claims 29 to 54 (number of inventions:1)

It is recognized that the inventions according to claims 29 to 54 of the present case relate to mammalian embryonic stem cells with inactivated OT7T0022 gene, a nonhuman mammal with the insufficient expression of OT7T0022 gene or a screening method using the animal. However, none of the stem cells, the nonhuman mammal and the screening method has any technical feature or problem common to the invention according to claim 1 of the present case.

Such being the case, the inventions according to claims 29 to 54 of the present case and the invention according to claim 1 of the present case are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

Document 1: WO 01/66134 A1 (Takeda Chemical Industries, Ltd.) 13 September, 2001 (13.09.01)

Document 2: EP 1132405 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD) 12 September, 2001 (12.09.01)

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
(International Patent Classification (IPC))

Int.Cl<sup>7</sup> C12N5/06, 5/10, A01K67/027, C12Q1/02, 1/68, C07K14/47

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC)

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>1</sup> A61K38/17, 31/7088, 39/395, 45/00, 48/00, A61P3/04, 5/00, 5/38, 7/00, 9/00, 13/12, 15/00, 21/00, 21/04, 25/00, 25/02, 25/08, 25/14, 25/18, 25/20, 25/24, 27/02, 37/00, C12N5/06, 5/10, A01K67/027, C12Q1/02, 1/68, C07K14/47

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>1</sup> A61K38/00-58, A61P21/00, 21/04

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年  
日本国公開実用新案公報 1971-2003年  
日本国登録実用新案公報 1994-2003年  
日本国実用新案登録公報 1996-2003年

## 国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN) BIOSIS (STN)  
REGISTRY (STN) EMBASE (STN)  
MEDLINE (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 01/66134 A1 (武田薬品工業株式会社) 2001. 09. 13, 全文, 特に請求項1 & EP 1262190 A1	1-12, 27, 28, 55, 56
A	EP 1132405 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD) 2001. 09. 12, 全文, 特に段落番号【0181】, 【0182】 & WO 00/29441 A1	1-12, 27, 28, 55, 56
A	UKENA, Kazuyoshi <i>et al</i> , Distribution of novel RFamide-related peptide-like immunoreactivity in the mouse central nervous system, Neuroscience Letters, 2001, Vol. 300, No. 3, pp153-156, 全文	1-12, 27, 28, 55, 56

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

10. 09. 03

## 国際調査報告の発送日

25.11.03

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
郵便番号 100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官 (権限のある職員)

浜田 麻子



4C

2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3451



C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	UKENA, Kazuyoshi <i>et al</i> , A novel rat hypothalamic RFamide-related peptide identified by immunoaffinity chromatography and mass spectrometry, FEBS Letters, 2002 Feb., Vol. 512, No. 1-3, pp255-258, 全文	1-12, 27, 28, 55, 56

## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 25, 26 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
請求の範囲25, 26は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

別紙参照

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。  
本願の請求の範囲1-12, 27, 28, 55, 56に係る発明のうち、配列番号1で表されるペプチドと、請求の範囲に最初に記載された用途である「筋疾患」及び「筋力低下」との関連について

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## 第II欄

請求の範囲1-12, 27, 28, 55, 56について（発明数8）

本願の請求の範囲1に係る発明は、「配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド～（略）を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋低下の予防・治療・改善剤」であると認められ、当該請求の範囲に択一的に記載されたそれぞれの用途に用いられる治療剤の共通部は、「配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド～（略）を含有してなる治療剤」であると認められる。

ここで、下記文献1の請求項1に記載のとおり、「配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドを含有してなる治療剤」は公知であるため、当該構成は新規な事項とは認められず、発明の主要部とみることができない。

また、それらがこの出願時まで未解決であった技術上の共通の課題を持つものとも認められない。

さらに、請求の範囲2-12, 27, 28, 55, 56についても同様である。

したがって、本願の請求の範囲1-12, 27, 28, 55, 56に択一的に記載された8つの発明、つまり、公知の有効成分を共通して含有し、「筋疾患」、「副腎機能障害」、「痙攣」、「攻撃性行動」、「歩行異常」、「体温上昇」、「白血球数減少」、「自発行動量の増加」のそれぞれの疾患に適用される治療剤は、いずれも単一の一般的発明概念を形成するように互いに関連している一群の発明とは認められない。

（なお、「白血球数減少」及び「血小板数減少」、「筋疾患」及び「筋力低下」はそれぞれ1の発明として発明の数を認定した。）

請求の範囲13-24, 27, 28, 55, 56について（発明数8）

本願の請求の範囲13に択一的に記載されたそれぞれの用途を有する「予防・治療・改善剤」の共通部は、「配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド～（略）を含有してなる治療剤」であると認められる。

ここで、下記文献2には、「配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022が、嚢胞状黄斑浮腫の治療に有用であること」が記載されているため（第49頁第23-25行）、当該構成は新規な事項とは認められず、発明の主要部とみることができない。

また、それらがこの出願時まで未解決であった技術上の共通の課題を持つものとも認められない。

さらに、請求の範囲14-24, 27, 28, 55, 56についても同様である。

したがって、本願の請求の範囲14-24, 27, 28, 55, 56に択一的に記載された、異なる用途を有する8つの発明はいずれも、単一の一般的発明概念を形成するように互に関連している一群の発明とは認められない。（発明の数の認定においては、「白血球数減少」及び「血小板数減少」、「筋疾患」及び「筋力低下」はそれぞれ1の発明とした。）

なお、本願の請求の範囲1に係る発明と、請求の範囲13に係る発明の共通部は「筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋低下の予防・治療・改善剤」であるが、本願出願前の医薬品の分野においては、筋疾患や痙攣等の治療剤は当業者に周知であると認められるところ、本願の請求の範囲13に係る発明は、請求の範囲1に係る発明と単一の一般的発明概念を形成するように関連している一群の発明とは認められない。そして、請求の範囲14-24, 27, 28, 55, 56についても同様である。

請求の範囲29-54について（発明数1）

本願請求の範囲29-54に係る発明は、OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、または当該動物を用いたスクリーニング方法であると認められるが、当該幹細胞、非ヒト哺乳動物、スクリーニング方法のいずれも、本願の請求の範囲1に係る発明と共通の技術的特徴または課題を有していない。

したがって、本願の請求の範囲29-54に係る発明は、本願の請求の範囲1に係る発明と単一の一般的発明概念を形成するように関連している一群の発明とは認められない。

文献1：WO 01/66134 A1(武田薬品工業株式会社)2001.09.13

文献2：EP 1132405 A1(TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD)2001.09.12